ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ ІМЕНІ Л.В. ГРОМАШЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"

ПРОФІЛАКТИЧНА МЕДИЦИНА

ЕПІДЕМІОЛОГІЯ • МІКРОБІОЛОГІЯ • ВІРУСОЛОГІЯ
ПАРАЗИТОЛОГІЯ • ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

Заснований у 1922 році
Поновлений у 2007 році

№ 2 (31)/2018

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ
Видається щоквартально
Свідоцтво про державну реєстрацію КВ №13720—2694 ПР від 05.03.2008 р.

ЗМІСТ

ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Міроненко А.П., Радченко Л.В., Лейбенко Л.В., Голубка О.С., Онищенко О.В., Фесенко А.Ю., Смутько О.Ю., П'янкова О.В., Камінська Т.М., Валюк М.Д., Резвих В.Г., Бредихіна М.О., Гамій Л.Г., Тараненко С.Г., Чергінець Л.М., Чубенко С.В., Яворська Л.Д., Леньга В.Р., Міронович Т.Л., Мельниченко Н.М., Потієнко Л.Д., Котлік Л.С., Тарасюк О.Ф., МордуХ С.Ф., Кітросан В.М., Дрогомирецька О.М., Федоренко Т.В., Зозуля Н.І., Чудна Л.М. Шевцов С.М
РЕЗУЛЬТАТИ ДОЗОРНОГО ЕПІДНАГЛЯДУ ЗА ГРИПОМ В УКРАЇНІ В СЕЗОНІ 2017–2018 РР., ПРОГНОЗ НА НАСТУПНИЙ ЕПІДСЕЗОН. 3

Оперчук Н.І., Задорожна В.І.
РІВЕНЬ ІМУНОЛОГІЧНОГО ЗАХИСТУ ПРОТИ КОРУ НАСЕЛЕННЯ КІРОВОГРАДСЬКОЇ ОБЛАСТІ В ПЕРІОД 2004 – 2015 РР.....10

Іванченко Н.О.
ПРОБЛЕМА ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ КАШЛЮ У ДОРОСЛИХ ПАЦІЄНТІВ З КАШЛЮКОМ. 18

Муравська Л.В., Дьяченко П.А., Руденко А.О.
КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕНЬ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ВИКЛИКАНОЇ ВІРУСОМ ВАРИЦЕЛЛА – ЗОСТЕР. 24

Марієвський В.Ф., Мурашко О.В.
ВИВЧЕННЯ ВІРУЛЕНТНОСТІ ШТАМІВ S. TYPHIMURIUM В ПОРІВНЯННІ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО СФОРМОВАНОЮ ПІДВИЩЕНОЮ СТІЙКІСТЮ ЦЬОГО ШТАМУ ДО ДІЇ ДЕЗІНФЕКТАНТІВ З ГРУПИ ЧАС–СЕПТОДОР. 30

CONTENTS

OWN RESEARCH

Mironenko AP, Radchenko LV, Leibenko LV, Golubka O.S., Onishchenko O.V., Fesenko A.Yu., Smutko O.Yu., Pyankova OV, Kaminskaya T.M., Valyuk M.D., Rezviy V.G., Bredikhina M.O., Gamiy L.G., Taranenko SG, Cherginets L. M., Chubenko S.V., Yavorska L.D., Lenga VR, Mironovich T.L., Melnichenko N.M., Potienko L.D., Kotlik L.S., Tarasyuk O.F., Mordukh S.F., Kitrosan V.M.,Drogomyretskaya O.M., Fedorenko T.V., Zozulya N.I., Chudna L.M. Shevtsov S.M.
RESULTS OF SENTINEL INFLUENZA SURVEILLANCE IN UKRAINE IN THE 2017–2018 SEASON, FORECAST FOR THE NEXT EPIDEMIC SEASON. 3

Operchuk N.I., Zadorozhna V.I.
Level of immunological protection against measles of the population of Kirovograd region in the period of 2004 – 2015..... 10

Ivanchenko N.O
PROBLEM OF DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF COUGH IN ADULT PATIENTS WITH PERTUSSIS. 18

Muravska L.V., Dyachenko P.A., Rudenko A.O.
CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE ISSUES OF THE NERVOUS SYSTEM, CAUSED BY VARICELLA–ZOSTER VIRUS. 24

Marievsky V.F., Murashko O.V.
DETERMINATION OF THE VIRULENCE OF THE STRAIN S. TYPHIMURIUM IN COMPARISON WITH THE EXPERIMENTALLY OBTAINED INCREASED RESISTANCE OF THIS STRAIN TO THE ACTION OF DISINFECTANTS FROM THE GROUP OF QAC– SEPTODOR. 30

© Державна установа "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України", 2008 р.

Київ • 2018

Вишнякова Г.В., Фільчаков І.В., Зарицький А.М.
ДОСЛІДЖЕННЯ ЗДАТНОСТІ ДО ВИЖИВАННЯ У ВОДІ ТА ВІРУЛЕНТНОСТІ ШТАМІВ SALMONELLA ENTERITIDIS. 35

ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

Шагинян В.Р., Фильчаков И.В., Парфенюк Ю.В., Дьяченко П.А., Панасюк Е.Л.
СТРАТЕГИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЭНЦЕФАЛИТОВ. 38

ЛЕКЦІЇ

Дзюблик И.В., Трохименко Е.П.
СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ. (ПРОБЛЕМНАЯ ЛЕКЦИЯ). 48

Vyshnyakova G.V., Filchakov I.V., Zarytsky A.M.
RESEARCH OF WATER SURVIVAL AND VIRULENCE OF SALMONELLA ENTERITIDIS STRAINS. 35

APPROACH TO THE PROBLEM

Shaginian V.R., Filchakov I.V., Parfenyuk Yu.V., Dyachenko P.A., Panasyuk O.L.
STRATEGY OF LABORATORY DIAGNOSTICS OF ENCEPHALITIS. 38

LECTURES

Dzyublik I.V., Trokhimenko O.P.
MODERN TRENDS AND PROSPECTS OF USING CELL CULTURES IN LABORATORY DIAGNOSTICS OF VIRAL INFECTIONS. 48

УДК 616.921.5–036.22(477)

А.П. Міроненко[1], Л.В. Радченко[1], Л.В. Лейбенко[1], О.С. Голубка[1], О.В. Онищенко[1], А.Ю. Фесенко[1], О.Ю. Смутько[1,2], О.В. П'янкова[3], Т.М. Камінська[4], М.Д. Валюк[5], О.П. Дробишевська[6], В.Г. Резвих[7], М.О. Бредихіна[7], Л.Г. Гамій[8], С.Г. Тараненко[9], Л.М. Чергінець[10], С.В. Чубенко[10], Л.Д. Яворська[11], І.М. Шевченко[11], В.Р. Леньга[12], Т.Л. Міронович[13], Н.М. Мельниченко[14], Л.Д. Потієнко[15], Л.С. Котлік[15], О.П. Тарасюк[15], В.М. Кітросан[16], О.М. Дрогомирецька[17], С.Ф. Мордух[18], Т.В. Федоренко[19], Н.І. Зозуля[20], Л.М. Чудна, С.М. Шевцов[21]

РЕЗУЛЬТАТИ ДОЗОРНОГО ЕПІДНАГЛЯДУ ЗА ГРИПОМ В УКРАЇНІ В СЕЗОНІ 2017-2018 РР., ПРОГНОЗ НА НАСТУПНИЙ ЕПІДСЕЗОН

[1]ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хворобі м. Л.В. Громашевського НАМН України»
[2]КНУ ім. Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини»
[3]Дитяча клінічна лікарня №9 Подільського району м.Києва
[4]Київська міська дитяча клінічна інфекційна лікарня
[5]Київська міська клінічна лікарня №9
[6]КНП «ЦПМСД №2» амбулаторія №18 Солом'янського району м.Києва
[7]ДУ «Дніпропетровський обласний лабораторний центр МОЗ України»
[8]КЗ «Дніпровська МКЛ №2 Дніпропетровської обласної Ради»
[9]КЗ «Дніпровська МКЛ №21 ім. проф. Попкової Є.Г.» Дніпропетровської обласної Ради»
[10]КЗ «Дніпровська ДМКЛ №6» Дніпропетровської обласної Ради
[11]ДУ «Хмельницький обласний лабораторний центр МОЗ України»
[12]КЗ «Хмельницька міська інфекційна лікарня»
[13]КЗ «Хмельницька міська дитяча лікарня»
[14]КЗ «Хмельницька міська поліклініка №1»
[15]ДУ «Одеський обласний лабораторний центр МОЗ України»
[16]КУ «ЦПМСД №28» м. Одеса
[17]КУ «Дитяча міська поліклініка №6» м.Одеса
[18]КУ «Одеська обласна дитяча клінічна лікарня» м.Одеса
[19]«Одеська міська інфекційна лікарня» м.Одеса
[20]КНП Харківської обласної ради «Обласна дитяча інфекційна клінічна лікарня»
[21]«Національний університет фізичного виховання і спорту України»

За даними дозорного епіднагляду за грипом в Україні епідемічний сезон грипу 2017–2018 рр. був поліетіологічним та мав низьку інтенсивність. Домінуючим в епідемію збудником був вірус грипу В/Брісбен/60/2008, що належав до гілки В/Вікторія. Очікується вищий рівень інтенсивності епідемічного процесу грипу в наступному сезоні 2018–2019 рр. порівняно з двома попередніми роками. Прогнозованим провідним збудником наступної епідемії грипу 2018–2019 рр. очікується штам А/Сінгапур/INFIMH–16–0019/2016 (H3N2).

Ключові слова: грип, епідемічний сезон, етіологічна структура, гемаглютинін, антигенні сайти.

Актуальність. Започаткування у 1948 році під егідою ВООЗ системи нагляду за грипом в світі було викликане необхідністю постійного слідкування за вкрай мінливим збудником та зумовлене тими чисельними медичними та економічними збитками, що він спричиняє в людській популяції у світовому масштабі. Для мінімізації витрат на проведення епідеміологічного нагляду за грипом та оптимізації його вже протягом останнього десятиліття в багатьох країнах створена та функціонує система дозорного нагляду за грипом. В Україні ця система почала працювати з 2008 року.

Дозорний епідеміологічний нагляд – це один із механізмів проведення санітарно-протиепідемічних заходів при організації дій, що спрямовані на запобігання виникненню та поширенню грипу і ГРІ. Він включає в себе систему отримання якісних репрезентативних показників при відборі пацієнтів із захворюванням на ГПЗ та ТГРІ, з метою

систематичного збору зразків для лабораторного підтвердження діагнозу.

Метою роботи було проведення епіданалізу грипу в Україні за даними дозорних центрів у сезоні 2017-2018 рр., визначення провідних збудників епідемії та укладання прогнозу на наступний епідемічний сезон.

Матеріали і методи. Епідеміологічний аналіз був здійснений на основі щотижневих даних, випадків з ознаками грипоподібних захворювань (ГПЗ) та тяжких гострих респіраторних захворювань (ТГРЗ) за даними сайту www.ukrinfluenza.com.ua, одержаних з 18-х дозорних закладів міст Києва, Дніпра, Одеси та Хмельницького. Саме критерії визначення випадків, запропоновані ВООЗ [6], дали змогу більш чітко проводити епідеміологічну вибірку для кращої репрезентативної інформації та оцінки даних [4].

Лабораторна діагностика грипу та респіраторних інфекцій проводилась шляхом дослідження зразків клінічного матеріалу, відібраних від хворих на ГПЗ та ТГРЗ, а також секційного матеріалу. Ізоляцію та накопичення вірусів грипу проводили на культурі клітин (КК) MDCK, отриманій з нирки самки кокер-спанієля. Також, ізоляти, позитивні в ПЛР на вірус грипу *A(H3N2)*, виділяли на генетично-модифікованій до цього підтипу культурі клітин *MDCK–SIAT,* одержаній з Світового центру грипу (Атланта) [10]. Відібраний супернатант використовували для типування в РГГА [2] на рівні штаму з грипозними діагностичними сироватками та передачі до Світового центру контролю за інфекціями (CDC, Атланта) для подальшого вивчення.

Для виділення нуклеїнової кислоти (РНК) використовували комерційний набір *NucleoSpin Dx Virus kit (Macherey–nagel)*. Приготування реакційної суміші проводили із застосуванням набору *Ver–so 1–Step qRT–PCR ROX Kit (Thermo Scientif–ic)* та набору праймерів і зондів на цільові гени, надісланих Центром по контролю за інфекціями (CDC, Атланта, США). Для проведення ампліфікації використовували прилад 96-лункового формату ПЛР в реальному часі Applied BiosystemsTM real-time PCR 7500. Дослідження методом ПЛР виконували згідно методики, затвердженої Вченою Радою ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського НАМН України (протокол № 4 від 05.07.2011 р.).

Матеріалом філогенетичних досліджень були послідовності генів, що кодують поверхневий антиген вірусів грипу — білок гемаглютинін, отримані шляхом секвенування вірусів грипу, ізольованих від хворих під час досліджуваного епідсезону [1]. Сиквенування ізолятів було здійснене в CDC (Атланта) та Лондоні в рамках програми світового нагляду за грипом. Сиквенси розміщені з обмеженим доступом на ресурсі GISAID (*http://platform.gisaid.org/*).

Для вирішення питання про значимість вибіркових показників та оцінки вірогідності відмінностей між одержаними показниками результати були оброблені статистичним методом [3, 11].

Результати дозорного епіднагляду в місті Дніпро.

Загальна кількість обстежених хворих ГПЗ та ТГРЗ протягом останнього епідсезону грипу 2017-2018 склала - 301 осіб, що було в 1,6 рази менше, ніж у минулому епідсезоні 2016-2017 рр. (477). Однак, поліпшилась якість досліджень. Так, частота виявлення РНК вірусів грипу методом ПЛР зросла з 25,2% у минулому епідсезоні до 26,6% у епідсезоні 2017-2018 рр. При дослідженні 301 зразка отримано 80 позитивних знахідок: переважно це РНК вірусу грипу В(63), а також РНК вірусу грипу *A(H1N1) pdm09* (13); вірусу грипу *A(H3N2)* (4).

32 хворих, у яких отримано негативні результати на грип, обстежено на наявність збудників ГРВІ. Позитивні результати отримано у 12 випадках (37,5%): виявлено РНК риновірусів – 9, респіраторно-синцитіального вірусу – 2 та вірусів парагрипу т.1 – 1.

Всі позитивні в ПЛР на грип зразки були досліджені на культурі клітин MDCK. Всього було виділено 65 ізолятів: віруси грипу В (48); грипу A(H1N1)pdm09 (13); вірусу грипу A(H3N2) (4). При цьому, віруси грипу A(H1N1)pdm09 та

A(H3N2) були виділені наприкінці епідсезону. Таким чином, результативність виділення вірусів грипу на культурі клітин склала – 81,3%, що вище показника результативності в минулому епідсезоні 2016-2017рр. – 73,3%.

З чотирьох дозорних лікарень: Дніпропетровська дитячалікарня№2,6;ДЦПМСД№1;Дніпропетровська міська клінічна лікарня №21(ДМКЛ№21), максимальна частота виділення вірусів грипу від хворих зареєстрована в ДМКЛ№21 - 41,7%.

Протягом епідсезону 32 ізоляти вірусів грипу були відправлені до двох світових центрів грипу (CDC, м.Атланта, США та м.Лондон, Великобританія) та підтверджені як B/Brisbane/60/2008 (12), *B/Victoria (2), B/Yamagata (5), B/Phuket/3073/2013* гілки *B/ Yamagata* (1), *A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09 (9)*, *A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)* (3) (Таб.1).

Загалом протягом сезону спостерігалось превалювання вірусів грипу В, що представлені штамами B/Brisbane/60/2008 генетичної гілки B/Victoria та B/Phuket/3073/2013 гілки B/Yamagata. Проте, наприкінці епідсезону відмічалась циркуляція вірусів грипу А, подібних до пандемічного штаму *A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09* та *A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2).*

Результати дозорного епіднагляду в місті Одеса.

Епідеміологічний аналіз був здійснений на основі даних, одержаних з 4-х дозорних закладів м. Одеса. Проведений аналіз сезону грипу 2017-2018 рр. показав, що це був найнижчий за інтенсивністю та кількістю тяжких випадків епідемічний сезон грипу за останні 5 років, що, вірогідно, пов'язано із циркуляцією вже не нових для населення збудників. Молекулярно-генетичним методом (ПЛР в режимі реального часу) було досліджено 371 зразок від хворих на ГПЗ та ТГРЗ (мазок із носоглотки), з них 85 виявилися позитивними на грип. 90% всіх позитивних зразків належали до вірусу грипу В. Цього епідемічного сезону серед населення м. Одеса та області циркулювали віруси, що належали до обох генетичних ліній вірусу грипу В: *В/Ямагата* та *В/Вікторія.*

Таким чином, епідемічний сезон грипу 2017-2018 рр. в м. Одеса був низької інтенсивності з переважанням в якості провідного збудника епідемії вірусу грипу В.

Результати дозорного епіднагляду в місті Хмельницький.

Для проведення дозорного епіднагляду були залучені медичні заклади м. Хмельницького: Хмельницька міська інфекційна лікарня; Хмельницька міська дитяча поліклініка; Хмельницька міська поліклініка №1.

В м. Хмельницькому на грип та ГРІ в 2017 році захворіло 73826 осіб, інтенсивний показник на 100 тис. населення склав 27786,2. За 8 місяців 2018 року – 42468 осіб, інтенсивний показник 15983,8. В порівнянні з 2016 роком захворюваність в 2017 році була меншою на 0,6%, за 8 місяців 2018 року на 2,4% більша порівняно із 8 місяцями 2017 року. Кількість хворих осіб, які відповідали визначенню випадку ГПЗ та ТГРІ у вищевказаних закладах склало 298, із них було обстежено вірусологічно – 219, а підтверджено грип методом ПЛР у 163 осіб, із них на культурі клітин - у 100.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що число хворих дітей, які відповідали визначенню випадка ГПЗ та ТГРЗ у вищевказаних закладах було зареєстровано на 61 особу більше, ніж дорослих, що становило 34,3%. Також відсоток вірусологічного підтвердження грипу серед хворих дітей був вищий на 48,9%. Очевидно, що епідпроцес грипу в 2017-2018рр. в м. Хмельницькому підтримувався переважно за рахунок дітей, які склали 78,6% від всіх зареєстрованих хворих.

В основному в місті відмічалась циркуляція вірусу грипу типу В – 157 випадків підтвердження методом ПЛР і ізоляції вірусу на культурі клітин. Віруси грипу типу А були підтверджені лише у 6 випадках. Також 57,1% лабораторно підтвердженого грипу реєструвалося у хворих, що відповідали визначенню ТРГЗ.

Результати дозорного епіднагляду в місті Київ.

Як і в інших містах України, сезон грипу 2017-2018 рр. був низької інтенсивності. Реєстрований рівень захворюваності, число тяжких форм хвороби та

летальних випадків було в цьому сезоні найменше, порівняно принаймні з 5-ма попередніми сезонами грипу. Результативність нагляду за ГПЗ (відсоток позитивних на грип зразків з усіх взятих для дослідження) склала в Києві 54%, а за ТГРЗ – 50%. Так з 191 обстеженого на грип зразка від хворих з ТГРЗ позитивними на грип виявилися 95 зразків. Всього на культурі клітин MDCK-SIAT в м. Києві в ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України» було виділено 83 віруси грипу, з яких 41 належали до вірусів грипу В генетичної гілки В/Вікторія, 19 - до вірусів грипу В генетичної гілки В/Ямагата, 9 - до вірусу грипу А(H1N1)pdm09 та 14 - до вірусу грипу А(H3N2). Серед усіх переважав штам В/Брісбен/60/2008, що належав до гілки В/Вікторія. Усі віруси гілки *В/Ямагата* належали до штаму В/Пхукет/3073/2013. Віруси А(H1N1)pdm09 повністю були представлені штамом А/Мічіган/45/2015. Серед вірусів А(H3N2) спостерігалась певна гетерогенність. Більша частина з них належали до штаму А/Гонконг/4801/2014, а інші – до нового А/Сінгапур/INFIMH-16-0019/2016.

Результати філогенетичного аналізу.

Генетична характеристика вірусів грипу А(H1N1) pdm09. Всі секвеновані ізоляти, виділені в Україні (всього 25) належали до домінуючої філогенетичної групи 6В.1, до якої також належить вакцинний вірус A/Michigan/45/2015. Дана група превалює у світі уже другий епідемічний сезон і є досить гетерогенною. Blast аналіз українських ізолятів показав, що найбільш подібні віруси виділялись по всьому світу (Європа, Азія, Австралія, Північна та Південна Америка). Найбільш віддалена в межах генетичної групи 6В.1 популяція, до якої увійшов перший секвенований пандемічний ізолят в країні A/Kyiv/316/2017, виявилась найбільш подібною до вакцинного штаму A/Michigan/45/2015.

Генетична характеристика вірусів грипу А(H3N2). За час епідемії було секвеновано 11 ізолятів українських вірусів А(H3N2) підтипу. Генетичний аналіз показав, що всі вони знаходились в межах домінуючого субкластеру 3С.2а, як і більшість ізолятів по всьому світу.

Генетична характеристика вірусів грипу генетичної лінії B/Victoria. Переважна більшість вірусів грипу *В* лінії *B/Victoria,* ізольованих в Україні за досліджуваний сезон, належали до групи V1A, яка представлена еталонними вірусами *B/Brisbane/60/2008* та *B/Texas/02/2013* (Рис. 1.). Також під час минулого епідемічного сезону у Північній півкулі була виявлена група вірусів з двома делеціями (видаленням) амінокислот в послідовності гемаглютиніну (*K162* та *N163*). Ця група була названа *V1A.1* (раніше *V1A–2Del*). Протягом 2017 року було виявлено 18 вірусів грипу з такими двома делеціями, які поширилися по всій Америці та Європі, а також були виявлені в деяких країнах Азії та Океанії. В Україні також були виділені ізоляти з двома делеціями — *B/Kyiv/351/2017*, *B/Kyiv/367/2017*, *B/Kyiv/156/2018* та *B/Kyiv/185/2018*, які на філогенетичному дереві розташувались поряд з новим вакцинним штамом B/Colorado/06/2017. Ізоляти з Києва набули додаткового амінокислотного заміщення *R412K*.

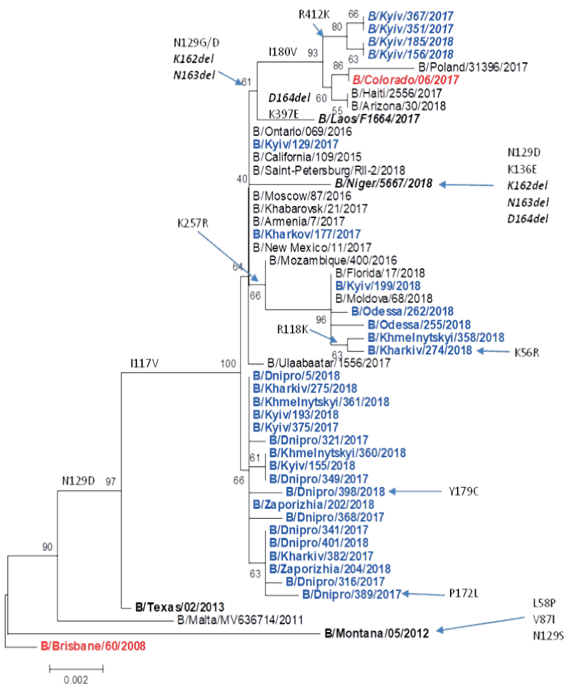

Рисунок 1. *Філогенетичне порівняння вірусів грипу B/Victoria сезону 2017–18 років за послідовностями гемаглютиніну (HA) проведене методом NJ, модель Kimura 2–parameter з 1000 бутстреп реплікацій.*

Незважаючи на ці незначні зміни в гемаглютиніні, більшість вірусів групи *V1A.1*, як і референс-штам *B/Colorado/06/2017*, антигенно відрізняються від *B/Brisbane/60/2008* та інших вірусів *V1A*. Для Північної півкулі сезону грипу 2018-2019рр. Штам *B/Colorado/06/2017* (V1A.1). був рекомендований ВООЗ в якості компоненту В для вакцин в країнах Північної півкулі.

Генетична характеристика вірусів грипу генетичної лінії B/Yamagata. Всі ізоляти грипу *B/Yamagata*, виділені за сезоні 2017-2018 рр. в Україні належали до домінуючої в світі генетичної групи *Y3*. З літературних даних відомо, що за останній сезон в межах генетичної групи *Y3* відбулось дві окремі реасортації, які призвели до появи вірусів з гемаглютиніном від штамів *B/Yamagata* генетичної групи *Y3* і нейрамінідазою від генетичної групи *B/Вікторія V1A* або *V4*. Ці реасортанти були виявлені спорадично і залишаються антигенно подібними до *B/Phuket/3073/2013*.

Загалом сезон 2017-2018 рр. відзначився сумісною циркуляцією всіх чотирьох вірусів грипу: *A(H1N1)pdm09, A(H3N2), B/Victoria і B/Yamagata.*

Висновок. Проведений епідеміологічний аналіз сезону грипу в Україні на основі даних дозорного епіднагляду показав низьку інтенсивність епідемічного процесу, незначну кількість тяжких форм та засвідчив домінування вірусу грипу В генетичної лінії В/Вікторія, а саме – штаму *B/Брісбен/60/2008*, що не був новим для населення країни.

Етіологічний прогноз грипу на наступний епідемічний сезон в Україні: з високим ступенем вірогідності штам *A/Сінгапур/INFIMH–16–0019/2016 – A(H3N2)* може стати провідним збудником наступної епідемії 2018-2019 рр. Штам *A/Мічиган/45/2015 – A(H1N1)pdm09* також може прийняти участь в епідемії, але його роль не буде провідною. Найменша вірогідність стати провідним збудником епідемії у вірусу грипу типу *B*, що подібний до *B/Колорадо/06/2017*. Цей вірус має делеції в амінокислотних залишках у двох положеннях гемаглютиніну (162 та 163), але поки що в Україні не зустрічався.

Перспективи подальших досліджень. Здійснення якісного дозорного нагляду за грипом в країні дозволяє проводити моніторинг епідемічної ситуації, збудників епідемії та укладати прогноз на наступні епідемічні сезони.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бутвиловский, А. В. Базисные методы молекулярной эволюции: учебно- метод. пособие / А. В. Бутвиловский, Е. В Барковский, В. Э. Бутвиловский. Минск: БГМУ, 2006. – 36 с.

2. Дзюблик І.В. Нова пандемія грипу 2009 р. – реалії сьогодення та найближчі перспективи / І.В. Дзюблик, А.П. Мироненко, О.В. Гуцало [та ін.] // Клінічна імунологія, алергологія, інфектологія. – 2009. – № 10(29). – С. 9–12.

3. Глотов Н.В., Животовский Л.А., Хромов И.Н. Биометрия. Под ред. Тихомировой М. М. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 264 с.

4. Голубка О.С. Оцінка ефективності дозорного епіднагляду за грипом в Україні / Голубка О.С., Онищенко О.В., Міроненко А.П. // Профілактична Медицина. – Т. 16, №4. – 2011. – 25–32 ст.

5. Рекомендації Центру грипу в Атланті, США щодо використання в практиці вірусологічних лабораторій КК з метою виділення вірусів грипу. – 1997. – 10 с.

6. Система эпидемологического надзора за гриппом ЕРБ ВОЗ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: *http://www.euroflu.org/index_ru.php.*

7. Електронний ресурс. – Режим доступу: *http://platform.gisaid.org/epi3/start*

8. Електронний ресурс. – Режим доступу: *http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/en/ .*

9. Oh D.Y. MDCK-SIAT1 cells show improved isolation rates for recent human influenza viruses compared to conventional MDCK cells / Oh D.Y., Barr I.G., Mosse J.A., Laurie K.L. // J Clin Microbiol. – 2008. – 46, № 7. – P. 2189-94.

10. Felsenstein J. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading / J. Fel-

senstein // Syst. Zool. – 1978. – № 27. – P. 401–410.

11. Gallagher P. Addition of carbohydrate side chains at novel sites on influenza virus hemagglutinin can modulate the folding, transport, and activity of the molecule / P. Gallagher, J. Henneberry, I. Wilson [et al.] // J Cell Biol. – 1988. – Vol.107. P.2059–2073.

12. Eshaghi A. Genetic characterization of seasonal influenza A (H3N2) viruses in Ontario during 2010–2011 influenza season: high prevalence of mutations at antigenic sites / A. Eshaghi, V. Duvvuri, A. Li [et al.] // Influenza and Other Respiratory Viruses. – 2013. – №6. – P. 250–256.

13. Tamura K. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods / Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. // Mol Biol Evol. – 2011. – 28, N 10. – P. 2731–2739.

14. Koel B.F. Substitutions near the receptor binding site determine major antigenic change during influenza virus evolution. Science. – 2013. –Vol. 342(6161). – P.976–979.

15. Manabu I. Predicting the Antigenic Structure of the Pandemic (H1N1) 2009 Influenza Virus Hemagglutinin / I. Manabu, I. Kimihito, Y. Reiko // PLoS ONE. – 2010. – Vol.5. – P.1-7.

16. Saitou N. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees / Saitou N., Nei M. // Molecular Biology and Evolution. – 1987. – 4, N 4. – P. 406–425.

17. World Health Organization Influenza Centre. NIMR interim report February 2017. [електронний ресурс] URL: *https://www.crick.ac.uk/media/358671/crick_nh_vcm_report_feb_2017_v2.pdf*

РЕЗУЛЬТАТЫ ДОЗОРНОГО ЭПИДНАДЗОРА ЗА ГРИППОМ В УКРАИНЕ В СЕЗОНЕ 2017-2018 ГГ., ПРОГНОЗ НА СЛЕДУЮЩИЙ ЭПИДСЕЗОН

А.П.Мироненко[1], Л.В.Радченко[1], Л.В.Лейбенко[1], О.С.Голубка[1], О.В.Онищенко[1], А.Ю.Фесенко[1], О.Ю.Смутько[1,2], А.В. Пьянкова[3], Т.М.Каминская[4], М.Д.Валюк[5], О.П.Дробишевская[6], В.Г.Резвых[7], М.А.Бредихина[7], Л.Г.Гамий[8], С.Г.Тараненко[9], Л.Н.Чергинец[10], С.В.Чубенко[10], Л.Д.Яворская[11], И.Н.Шевченко[11], В.Р.Леньга[12], Т.Л.Миронович[13], Н.Н.Мельниченко[14], Л.Д.Потиенко[15], Л.С.Котлик[15], Е.Ф.Тарасюк[15], В.М.Китросан[16], Е.Н.Драгомирецкая[17], С.Ф.Мордух[18], Т.В.Федоренко[19], Н.И.Зозуля[20], Л.М. Чудная, С.Н.Шевцов[21]

[1]ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В.Громашевського НАМН Украины »

[2]КНУ им. Тараса Шевченка, ННЦ «Институт биологии и медицини»

[3]Детская клиническая больница № 9 Подольского района г.Киева

[4]Киевская городская детская клиническая инфекционная больница

[5]Киевская городская клиническая больница № 9

[6]КНП «ЦПМСП №2» амбулатория №18 Соломенского района г.Киева

[7]ГУ «Днепропетровский областной лабораторный центр МЗ Украины»

[8]КУ «Днепровская ГКБ № 2» Днепропетровского областного Совета

[9]КУ «Днепровская ГКБ № 21 им. проф. Е.Г. Попковой» Днепропетровского областного Совета

[10]КУ «Днепровская ГКБ № 6» Днепропетровского областного Совета

[11]ГУ «Хмельницкий областной лабораторный центр МЗ Украины»

[12]КУ «Хмельницкая городская инфекционная больница»

[13]КУ «Хмельницкая городская детская больница»

[14]КУ «Хмельницкая городская поликлиника № 1»

[15]ГУ «Одесский областной лабораторный центр МЗ Украины»

[16]КНП «ЦПМСП №28» г.Одесса

[17]КУ «Детская городская поликлиника №6» г.Одесса

[18]КУ «Одесская областная детская клиническая больница» г.Одесса

[19]КУ «Одесская городская инфекционная больница»
[20]КНП ХОС "Областная детская инфекционная клиническая больница"
[21]Национальный университет физического воспитания и спорта Украины

По данным дозорного эпиднадзора за гриппом в Украине, эпидемический сезон гриппа 2017-2018 гг. был полиэтиологичным и имел низкую интенсивность. Доминирующим в эпидемию возбудителем был вирус гриппа В/Брисбен/60/2008, принадлежавший к ветви В/Виктория. Ожидается более высокий уровень интенсивности эпидемического процесса гриппа в следующем сезоне 2018-2019 гг. по сравнению с двумя предыдущими годами. Прогнозируемым ведущим возбудителем следующей эпидемии гриппа 2018-2019 гг. ожидается штамм А/Сингапур/IN-FIMH-16-0019/2016 (H3N2).

Ключевые слова: *грипп, эпидемический сезон, этиологическая структура, гемагглютинин, антигенные сайты.*

THE RESULTS OF INFLUENZA SENTINEL SURVEILLANCE IN UKRAINE IN 2017-2018 SEASON, FORECAST FOR THE NEXT EPIDEMIC SEASON

A.P. Mironenko[1], L.V. Radchenko[1], L.V. Leibenko[1], O.S. Golubka[1], O.V. Onishchenko[1], A.Yu. Fesenko[1], O.Yu. Smutko[1,2], O.V. Pyankova[3], T.M. Kaminskaya[4], M.D. Valyuk[5], O.P.Drobyshevska[6], V.G. Rezvyh[7], M.A. Bredikhina[7], L.G. Gamiy[8], S.G. Taranenko[9], LM Cherginets[10], S.V. Chubenko[10], L.D. Jaworska[11], I.M.Shevchenko[11], V.R. Lenga[12], T.L. Mironovych[13], N.M.Melnichenko[14], L.D. Potienko[15], L.S. Kotlik[15], O.F. Tarasyuk[15], S.F.Mordukh[5], V.M. Kitroansan[16], O.M. Dragomiretskaya[17], S.F.Mordukh[18], T.B. Fedorenko[19], N.I. Zozulya[20], L.M. Chudna, S.M.Shevtsov[21]
[1]SI «L.V. Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine»
[2]ESC "Institute of Biology", Taras Shevchenko National University of Kyiv
[3]Children's Clinical Hospital № 9, Podilsky Reg. Kiev
[4]Kiev City Children's Clinical Infectious Diseases Hospital
[5]Kiev City Clinical Hospital № 9
[6]Center of primary care №2 – the Ambulance №18 of Solomiansky region of Kyiv
[7]SI "Dnepropetrovsk Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine"
[8]PI «Dnipro Sity Clinic № 2 of Dnipropetrovsk Regional Council»
[9]PI «E.G. Popkova Dnipro Sity Clinic № 21 Dnipropetrovsk of Dnipropetrovsk Regional Council»
[10]PI «Dnipro Sity Clinic № 6 of Dnipropetrovsk Regional Council»
[11]SI «Khmelnitsky regional laboratory center of the Ministry of Health of Ukraine"
[12]PI «Khmelnytsky city infectious hospital»
[13]PI «Khmelnytsky City Children's Hospital»
[14]PI «Khmelnytsky City Polyclinic № 1»
[15]SI «Odessa Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine"
[16]MI Center of primary care №28 of Odessa City
[17]MI «City Children's Polyclinic №6» of Odessa City
[18]MI «Odessa Children's Regional Infectious Diseases Hospital»
[19]MI «Odessa City Infectious Diseases Hospital»

[20]Communal nonprofit enterprise of Kharkiv regional council "Kharkiv Regional Children's Infectious Clinical Hospital"
[21]National University of Physical Education and Sport of Ukraine

According to data of sentinel influenza surveillance in Ukraine the epidemic season 2017-2018 was polyethyological and had low intensity. The dominant pathogen during the epidemic was influenza virus B/Brisbane/60/2008, that belonged to B/Victoria lineage. The higher level of intensity of epidemic process is expected next season 2018-2019 in comparison with two previous years. It is expected that the forecasted predominant virus during the next epidemic will be strain A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2).

Key words: *influenza, epidemic season, etiological structure, hemagglutinin, antigenic sites.*

UDK 616–097.3

N.I. Operchuk[1], V.I.Zadorozhna[2]

LEVEL OF IMMUNOLOGICAL PROTECTION AGAINST MEASLES OF THE POPULATION OF KIROVOGRAD REGION IN THE PERIOD OF 2004 – 2015

[1] SI «Kirovograd Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine», Kropivnitskiy
[2]SI «Institute of Epidemiology and Infectious Diseases named after L.V.Gromashevsky National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Immunological monitoring of the state of immunity against infections controlled by prophylactic immunization prophylactic immunization is one of the main tools for epidemiological surveillance of infectious diseases. The purpose of immunological monitoring is to assess the state of individual, population immunity in a specific territory; determining the level of actual protection against infections in certain age groups, assessing the quality of preventive vaccinations, identifying the risk groups with regard to morbidity and timely organization of necessary targeted prevention activities. According to sectorial statistical reporting (form 40 – healthy), in the period 2004 – 2015, the levels of specific IgG antibodies to measles virus were determined in 2654 people in the Kirovograd region, of which 40.7% lived in urban areas and 59.3% in rural areas: 266 people (2004); 175 (2005); 320 (2006); 292 (2007); 301 (2008); 265 (2009); 123 (2010); 123 (2011); 123 (2012); 123 (2013); 138 (2014); 405 (2015). The proportion of individuals with protective levels of specific antibodies ranged from 31.3% to 93.5% in different years of the study; with antibody levels less protective – from 0.8% to 42.2%; the share of seronegative people – from 0% to 26.5%. Seronegative individuals are a group of the risk of bark morbidity and require timely immunization against measles.

Key words: prophylactic immunization, measles, measles vaccination, measles antibody levels.

Prophylactic immunization is one of the most effective means of protection against most infectious diseases all over the world. Thanks to the vaccine, nearly 3 million children can be saved annually, and 750,000 children are warned about the serious complications of infectious diseases [6]. Despite the fact that immunization annually saves lives to millions of people in the world and prevents their disability, the epidemic process of viral infections with the air mechanism of transmission of the agent is most difficult to control, to achieve positive prognoses of the WHO for elimination / eradication of the pathogen and causes the periodic extension of their terms and deadlines for the implementation of global programs to combat these infections.

A striking example is measles whose term of elimination in the European Region of the WHO has been postponed from 2010 to 2015. However, it is evident that this term has been rescheduled for 2020. The WHO Strategic Advisory Group on Immunization con-

cluded that the global intermediate goals and quest for elimination of measles by 2015 have not been achieved due to gaps in the coverage of the population by immunization [7].

Despite the fact that the registered number of cases of measles in the world from 2000 to 2013 decreased by 67.6% (from 863 479 to 279 776), in Europe - by 34% (from 37 421 to 24 689), the estimated number of lethal cases of measles in the world in 2013 amounted to 145,700, in Europe – 100 [1, 8, 9]. There is a significant upward trend in the incidence of measles. Measles remains one of the main causes of mortality among young children, even though there is a safe, effective and affordable vaccine.

In 2015 globally 134,200 cases of death from measles were registered – almost 367 cases per day and 15 cases per hour. Between 2000 and 2015, measles vaccination has led to a reduction in global mortality from measles by 79% – from 651,600 deaths in 2000 to 134,200 in 2015. During this period, measles vaccination has warned 20.3 million death cases. In 2015, almost 85% of all children in the world received one dose of measles vaccine during their first year of life, compared with 73% in 2000 [10, 11].

Measles are registered in many European countries. Director of the WHO Regional Office for Europe, Dr. Zsuzsanna Jacob, emphasized that despite steady trends in the path of measles eradication in recent years, outbreaks of measles will be recorded until each country provides immunization that will fully protect the population [12].

By adopting the European Vaccine Action Plan 2015 – 2020, all 53 member states in the Region have committed themselves to achieving measles and rubella elimination as one of the priority targets in the area of immunization. The new Global Strategy Plan for Combating Measles and Rubella 2012 – 2020 sets out clear targets for tackling measles and rubella and eliminating them. Target for the end of 2020 – Elimination of measles and rubella at least in 5 WHO regions [13].

Emphasizing the indisputable importance of vaccine prophylaxis, in particular the level of vaccination coverage of those age groups identified by the current Calendar of prophylactic vaccinations, it is necessary to note the uneven intensity of the epidemic process of viral infectious diseases with an air mechanism of transmission of the pathogen in different territories under the same demographic, socioeconomic and other conditions. It is impossible to exclude the influence of certain local or general natural and man – made factors that differ in intensity, both in the functioning of the parasitic system as a whole, and in the implementation of individual parts of the epidemic process. The impact of various harmful environmental factors is of a widespread nature and is a real threat to the health and life of people. A special part in the human population is the children who are most sensitive to this. The child population can be a kind of indicator cohort, which reflects the reaction of the organism to the impact of harmful environmental factors [10, 11].

The impact of ionizing radiation on the health of the population remains a pressing issue for Ukraine. In Ukraine, there are territories where there is a risk of excessive exposure to certain categories of uranium mining workers and the population living in the area of these enterprises. This territory is Kirovograd region.

The Kirovograd region is geographically located in the central part of the Central Ukrainian Crystal Shield, whose subsoil is very rich in dependent uranium. On the territory of the region there is uranium – mining enterprises of the State Enterprise «Eastern Mining and Enrichment Plant», which develop uranium deposits: Michurinskaya, Central, Vatutinskaya and Novokonistyninovskoye. The latter is the largest in Europe and the third largest in the world (after 2 deposits of Canada) in terms of uranium reserves. Enterprises that extract and process primary uranium enrichment are Smolinska, Novokonstantinovskaya and Ingulskaya mines. The latter is located on the southern outskirts of the Kropivnitskiy. On the territory of Maloviskivskyi district in the Smolino began construction of a plant for the production of thermal elements for a nuclear reactor. Extraction of uranium ores by underground block leaching and surface heap

leaching is carried out.

The extraction of uranium ore is characterized by the fact that almost all waste - dumps of mine rocks, mine water discharges, emissions into the atmosphere of mine air, carrying out of technological blasting work is potential sources of radiation pollution of the environment. The effect of technogenic contamination by natural radionuclides of the environment and an increased natural radiation background on the human immune state, including post – vaccination, is not excluded. This, in turn, will be reflected in the change in susceptibility to pathogens of infectious diseases, manifestations of their forms, to influence the properties of the pathogen and to determine the epidemiological features of the infectious disease.

Immunological monitoring of the state of population immunity against infections controlled by prophylactic immunization is one of the main tools for epidemiological surveillance of infections. The purpose of immunological monitoring is to assess the state of individual, population immunity in a specific territory; determining the level of actual protection against infections in certain age groups, assessing the quality of preventive vaccinations, identifying risk groups and timely organization of necessary targeted prevention activities.

The main criterion for the state of specific population immunity is the level of the immune, when the proportion of individuals with specific immunity against measles and the proportion of persons susceptible to this infection are determined. The level of seronegative persons and the proportion of their stratum significantly influence the nature of the development of the epidemic process.

The aim of the study. Forecasting the epidemic situation with regard to the risk of measles outbreaks by determining the level of population immunity and collective post vaccination immunity against measles among the people of Kirovograd region during 2004 – 2015 and assessing the effectiveness of vaccines prophylaxis.

Materials and methods.

Data of the official statistical reporting of the Kirovograd Regional Sanitary and Epidemiological Station (2004 – 2012) and the State Institution «Kirovograd Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine» (2013 – 2015) (forms № 1, № 2, 40), demographic annual indicators of the State Statistics Service of Ukraine and the Main Department of Statistics in the Kirovograd region were analyzed.

The anti-measles virus antibodies levels in the sera of the subjects during the observation period were determined by specialists of the virology laboratory of the Kirovograd Regional Sanitary and Epidemiological Station (2004 – 2012) and the State Institution «Kirovograd Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine» (2013 – 2015).

In order to study the anti-measles virus antibody (Ig G) levels the reaction of passive hem agglutination (2004 - 2008) and enzyme immunoassay analysis (2009 - 2015) were used in the Kirovograd region. Protective antibody titer for measles is 1:10 [13]. Detection of specific IgG antibodies to the measles virus was performed by enzyme immunoassay analysis using test systems, the manufacturer of Vector – Best Russia. The levels of specific IgG antibodies to measles virus were determined in 2654 people in the Kirovograd region: 266 people (2004); 175 (2005); 320 (2006); 292 (2007); 301 (2008); 265 (2009); 123 (2010); 123 (2011); 123 (2012); 123 (2013); 138 (2014); 405 (2015). Examination subject to different age groups of the child population, as well as adults. As a result of the study, groups of the population were determined: seronegative persons, persons with antibody levels less protective, persons with a protective level of antibodies.

Results and discussion

According to the sectorial statistical reporting (form 40 – healthy), the levels of specific IgG antibodies to the measles virus were determined in 2,654 people, of which 1081 lived in cities (40.7%) and 1573 (59.3%) – rural areas. In the selection of persons for the examination of the immunity intensity, significant criteria were taken into account: documentary evidence of the evidence of measles vaccination, the absence of a history of suffering from measles, the absence

of contact with measles patients during the last 12 months, the consent of the persons or their parents to participate in the study with determination of immunity, filled questionnaire, etc.

The average indicators of individuals with protective levels of specific antibodies ranged from 31.3% to 93.5% and amounted to: 59.0% (2004); 53.1% (2005); 31.3% (2006); 36.0% (2007); 68.0% (2008); 84.9% (2009); 87.0% (2010); 91.1% (2011); 93.5% (2012); 87.0% (2013); 84.1% (2014); 89.6% (2015).

The share of population with antibody levels was lower than protective ones ranged from 0.8% to 42.2% and amounted to 28.9% (2004); 26.3% (2005); 42.2% (2006); 40,1% (2007); 24.0% (2008); 14.3% (2009); 13.0% (2010); 3.3% (2011); 0.8% (2012); 13.0% (2013); 4.3% (2014); 2.0% (2015).

The proportion of seronegative persons among the surveyed varied from 0% to 26.5% and amounted to: 12.0% (2004); 20.6% (2005); 26.5% (2006), 22.9% (2007); 8.0% (2008); 0.8% (2009); 0% (2010); 5.6% (2011); 5.7% (2012); 0% (2013) 11.6% (2014); 8.4% (2015).

The proportion of seronegative subjects among the examined adults varied from 19.6% to 24.6% and allows assessing the status of specific immunity among the age groups of the examined adults (21 – 25 years, 26 – 30 years) as unsatisfactory. Accordingly, these age groups of the adult population under certain conditions will constitute a risk group for measles and play a major role in enhancing the epidemic process of measles in Ukraine [12].

Indicators on the levels of antibodies in different age groups of the population of Kirovograd region for 2004 – 2015 are given in Table 1.

Table 1. Results of the study of the immunity status of the measles virus among the population of the Kirovograd region in 2004 – 2015.

Years	The number of serums	Seronegative persons, %						Persons with antibody levels less protective, %						Persons with a protective level of antibodies, %					
		Pregnant	Newborns	Child	Teens	Adults	Total	Pregnant	Newborns	Child	Teens	Adults	Total	Pregnant	Newborns	Child	Teens	Adults	Total
2004	266	-	-	13,3	3,3	11,1	12,0	-		26,6	46,7	27,8	28,9	-	-	60,1	50,0	61,1	59,0
2005	175	-	-	26,4	5,1	9,1	20,6	-	-	22,4	35,9	36,4	26,3	-	-	51,2	59,0	54,5	53,1
2006	320	-	-	30,1	38,1	15,4	26,5	-	-	43,8	30,2	46,8	42,2	-	-	25,3	31,7	37,8	31,3
2007	292	-	-	21,6	37,9	19,3	22,9	-	-	39,2	39,7	41,3	40,1	-	-	39,2	24,1	39,4	36,0
2008	301	-	66,6	10,7	10,7	2,0	8,0	-	0	25,6	28,6	20,8	24,0	-	33	63,7	60,7	77,2	68,0
2009	265	-	-	0,6	2,2	0	0,8	-	-	15,8	17,4	2,9	14,3	-	-	83,6	80,4	97,1	84,9
2010	123	-	0	0	0	0	0	-	0	12,5	8,3	17,2	13,0	-	100	87,5	91,7	82,8	87,0
2011	123	-	-	3,1	10,0	8,0	5,6	-	-	3,2	0	4,0	3,3	-	-	93,7	90,0	88,0	91,1
2012	123	-	-	3,2	20,0	12,0	5,7	-	-	1,1	0	0	0,8	-	-	95,7	80,0	88,0	93,5
2013	123	-	-	0	0	0	0	-	-	13,5	10,7	16,7	13,0	-	-	86,5	89,3	83,3	87,0
2014	138	-	-	11,7	21,4	6,67	11,6	-	-	4,3	-	6,67	4,3	-	-	84,0	78,6	86,7	84,1
2015	405	-	-	2,0	-	-	2,0	-	-	8,,4	-	-	8,4	-	-	89,6	-	-	89,6

Based on the results of studying specific measles post-vaccination immunity of the children's population of Kirovograd region a group of children (106 subjects), who had documentary evidence of the measles immunization according to the National Immunization Schedules, did not have protective levels of the anti-measles virus antibodies. These children are at the risk of measles disease. This allowed to carry out immunocorrections to children of this risk group and to increase the effectiveness of preventive and antiepi-

demic measures on the path of measles elimination in modern conditions.

During the study period, there were districts, where all examined subjects had the protective levels of the anti-measles virus antibodies. In 2008, this situation was observed in Bobrynets'k (26 subjects), Kompanievsky (12 subjects), Novoukrainsky and Maloviskivskyi districts (10 subjects in each); in 2009 - in Novgorodkivskyi district (12 subjects); in 2011 - in Novgorodkivskyi (6 subjects) and Vilshansky districts (29 subjects); in 2013 - in Znamenskoye district (30 subjects); in 2014 - in Novgorodkivskyi (17 subjects); Alexandria (13 subjects).

In 2015, a study was made of the immunological efficacy of measles vaccination of children in the Kirovograd region in the context of low measles incidence (both in areas where uranium plants are located and without them).

The study group included children living in the territories where uranium mining enterprises are located as territories of the influence of technogenically enhanced natural sources of ionizing radiation: Kropivnitskiy, Kirovograd district, Maloviskivskyi district, Smolino Maloviskivskyi region (the city is a satellite of uranium mine), the city of Mala Vyska (205 serums).

The control group included subjects living on conditionally "clean" territories without the influence of technogenically intensified natural sources of ionizing radiation: Alexandria, Aleksandriysky district, Svitlovodsk and Svitlovodskiy district (200 serum samples).

The total number of blood sera tested was 405. The share of protected and unprotected individuals from measles among tested subjects in the Kirovograd region is presented in Figures 1 and 2.

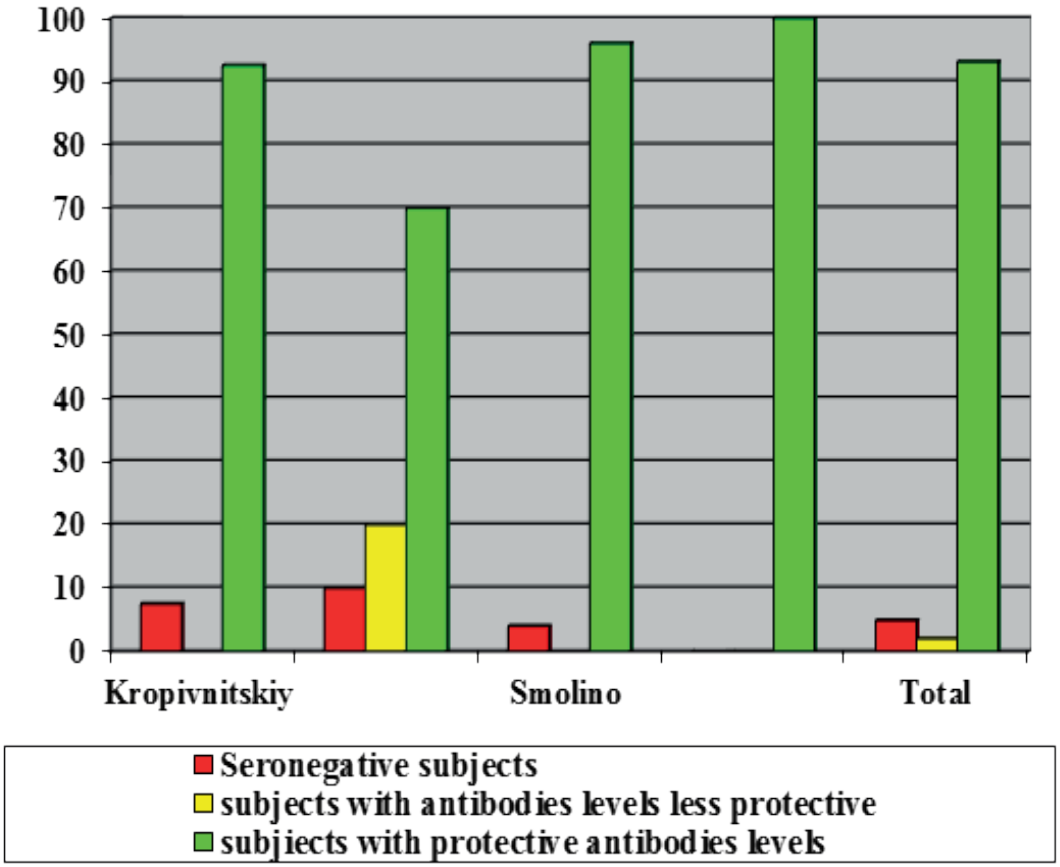

Fig.1. Percentage of subjects with different levels of the anti-measles virus antibodies among the tested children of the experimental group from the territories where uranium-mining enterprises are located in Kirovograd region (2015).

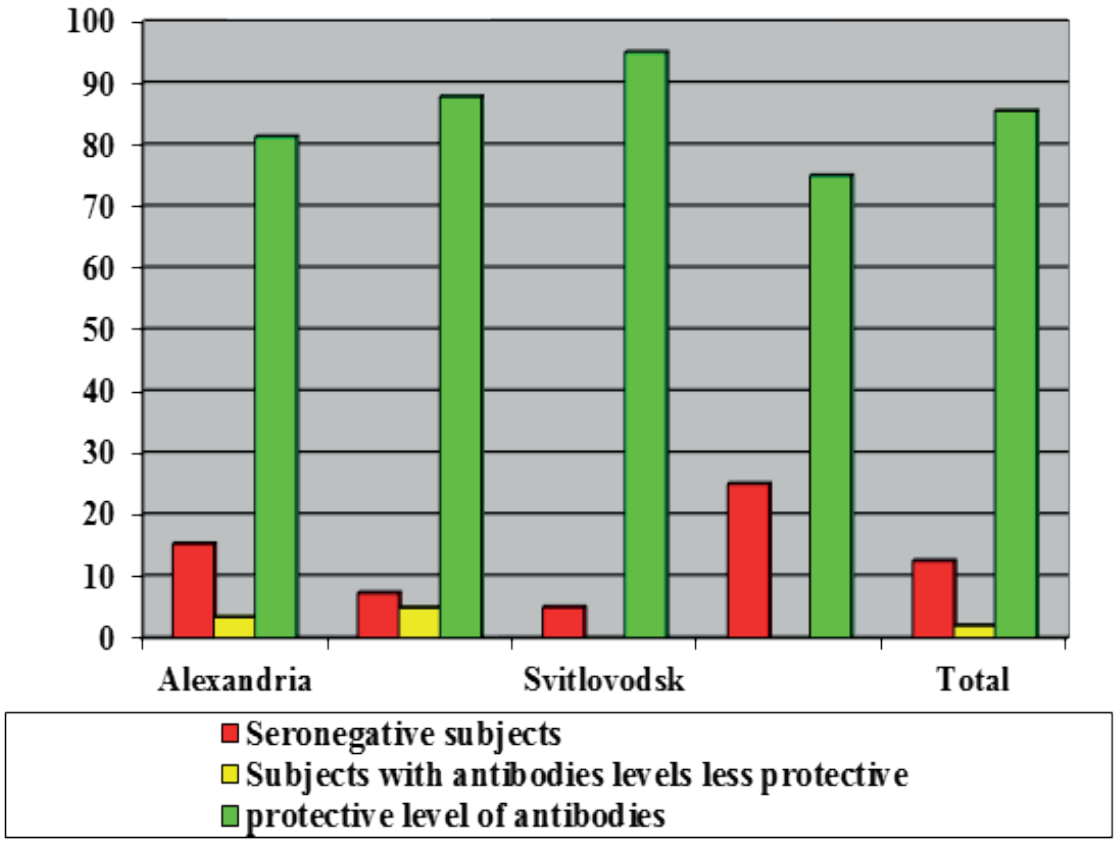

Fig.2. Levels of immunity to measles virus among tested children in the control group from territories where there are no uranium-mining enterprises in Kirovograd region (%) (2015).

The percentage of seronegative individuals in the experimental group was 4.9%, with antibodies below the protective level - 2%, with protective levels - 93.1%. The highest percentage of protected individuals among the examined children was in the Malo-viskiy district - 100%, in Smolino - 96%, which indicates the high effectiveness of the measles vaccine in these areas.

The percentage of seronegative individuals in the control group was 12.5%, with antibodies below the protective level – 2%, with protective levels – 85.5%. The maximum indicators of protected children against measles were detected in Svitlovodsk city – 95.0%.

Thus, the percentage of seronegative children and children with a protective level of the anti-measles virus antibodies in the experimental group was 4.9% and 93.1%, respectively, and in the control group - 12.5% and 85.5%, respectively, which probably indicates a lack the expressed negative influence on the formation of post vaccine anti measles immunity in the children's population of such anthropogenic factor as ionizing radiation of technogenically enhanced natural sources.

Conclusions: Between 2004 and 2015 in the Kirovograd region the percentage of individuals with protective levels of the anti-measles virus antibodies among the subjects surveyed was 31.3% -93.5%; with a level of antibodies below protective - 0.8% - 42.2%; the percentage of seronegative individuals was 0% - 26.5%. Such indicators indicate significant gaps in the immunization system in the region, the epidemic risk for measles outbreaks, which requires an immune correction for groups of children in certain areas. The percentage of seronegative individuals in the group of children living in the territories with uranium mining enterprises (the study group) was lower (4.9%), and the percentage of individuals with a protective antibody level was higher (93.1%) than

in the control group (12,5% and 85.5% respectively). These data can be considered as preliminary, which require further study.

The prospect of further research is the study of the mechanisms of the influence of human vital activity on the formation of post vaccine immunity to various infectious diseases.

LITERATURE

1. Задорожна В. І. Дитячі інфекційні хвороби та перспективи сучасної вакцинології (за матеріалами 5 – го Світового конгресу Міжнародного товариства з дитячих інфекційних хвороб / В. І. Задорожна. // Профілактична медицина. – 2008. – №2. – С. 63 – 68.

2. Конституциональные особенности детей и подростков, проживающих в условиях хронического низко дозового радиационного воздействия, как диагностические критерии их здоровья / И. А.Чешик, Е. К. Шестерина, В. В. Коваленко, В. А. Мельник. // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – №2. – С. 32–36.

3. Оцінка стану популяційного імунітету проти кору та визначення вікових груп ризику / [Г. В. Мойсеєва, В. І. Задорожна, Л. В. Новик та ін.]. // Здоров'я дитини. – 2009. – №4. – С. 95 – 98.

4. Півень Н. В. Захворюваність дитячого населення найбільш радіоактивно забруднених територій України хворобами органів травлення / Н. В. Півень, Н. В. Гунько, Н. В. Короткова. // Довкілля та здоровя. – 2014. – №4. – С. 55–60.

5. Про затвердження методичних вказівок «Організація проведення імунологічного моніторингу за інфекціями, які контролюються засобами специфічної профілактики (дифтерія, правець, кашлюк та кір)» / Наказ МОЗ України від 04.07.2006 №441. – Київ. – 2006. – 26 с.

6. World Health Organization. The Global Vaccine Action Plan 2011 – 2020. Introduction and Immunization Landscape Today [Electronic resource]. – 2013. – Resource access mode: *www.who.int/immunization/global_vaccine_action_plan/GVAP_Introduction_and_Immunization_Landscape_Today.pdf?ua=1.*

7. World Health Organization. Measles. Fact sheet. [Electronic resource] / World Health Organization – 2018. – Resource access mode: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs286/en/.

8. WHO: Infection Prevention and Control of Epidemic and Pandemic Prone Acute Respiratory Infections in Health Care. / – 2014. – 133p. – Recourse access mode: *http: // www.who.int/csr/bioriskreduction/infection_control/publication/en/*

[Electronic resource] // World Health Organization. – Geneva. – 2014. – Recourse access mode: *www.who.int/csr/bioriskreduction/infection_control/publication/en/.*

9. WHO. Weekly epidemiological record. Measles vaccines: WHO position paper [Electronic resource] / World Health Organization // WHO. – 2009. – Recourse access mode: http://www.who.int/wer.

10. Measles [Electronic resource] // WHO. – 2018. – Recourse access mode: *http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/measles.*

11. Global Measles and Rubella Strategic Plan 2012 – 2020 – Switzerland: World Health Organization, 2012. – 44 p.

12. World Health Organization. Immunization coverage. Fact sheet. [Electronic resource] / World Health Organization – 2017. – Recourse access mode: *www.who.int/mediacentre/factsheets/fa378/en.*

13. World Health Organization. Measles. Fact sheet. [Electronic resource] / World Health Organization – 2018. – Recourse access mode: *www.who.int/mediacentre/factsheets/fs286/en/.*

РІВЕНЬ ІМУНОЛОГІЧНОГО ЗАХИСТУ ПРОТИ КОРУ НАСЕЛЕННЯ КІРОВОГРАДСЬКОЇ ОБЛАСТІ В ПЕРІОД 2004 – 2015 рр.

Н.І. Оперчук[1], В.І.Задорожна[2],

[1]ГУ «Кіровоградський обласний лабораторний центр МОЗ України», м. Кропивницький

[2]ГУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського НАМН України», м. Київ

Імунологічний моніторинг за станом популяційного імунітету проти інфекцій, які контролюються засобами імунопрофілактики – один з основних інструментів епідеміологічного нагляду за інфекціями. Метою імунологічного моніторингу є оцінка стану індивідуального, популяційного імунітету на конкретній території; визначення рівня фактичної захищеності від інфекцій в певних вікових групах населення, оцінка якості профілактичних щеплень, виявлення груп ризику щодо захворюваності та своєчасна організація проведення необхідних цілеспрямованих профілактичних заходів. За даними галузевої статистичної звітності (форма 40 – здоров) в період 2014 – 2015 рр. рівні специфічних антитіл класу IgG до вірусу кору визначали у 2654 осіб Кіровоградської області, з них 40,7 % мешкали у містах та 59,3 % у сільській місцевості: 266 осіб (2004); 175 (2005); 320 (2006); 292 (2007); 301 (2008); 265 (2009); 123 (2010); 123 (2011); 123 (2012); 123 (2013); 138 (2014); 405 (2015). Частка осіб із захисними рівнями специфічних антитіл коливались від 31,3 % до 93,5 % в різні роки спостереження; з рівнями антитіл менше захисних – від 0,8 % до 42,2 %; частка серонегативних осіб – від 0 % до 26,5 %. Серонегативні особи являються групою ризику захворюваності кором та потребують своєчасної імунізації проти кору.

Ключові слова: *профілактична імунізація, кір, вакцинація від кору, рівні антитіл до кору.*

УРОВЕНЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ПРОТИВ КОРИ НАСЕЛЕНИЯ КИРОВОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ в период 2004 - 2015 гг.

Н.И. Оперчук[1], В.И.Задорожна[2]

[1]ГУ «Кировоградский областной лабораторный центр МЗ Украины», г. Кропивницкий

[2]ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В.Громашевского НАМН Украины », г. Киев

Иммунологический мониторинг за состоянием популяционного иммунитета против инфекций, которые контролируются средствами иммунопрофилактики – один из основных инструментов эпидемиологического надзора за инфекциями. Целью иммунологического мониторинга является оценка состояния индивидуального, популяционного иммунитета на конкретной территории; определение уровня фактической защищенности от инфекций в определенных возрастных группах населения, оценка качества профилактических прививок, выявление групп риска заболеваемости и своевременная организация проведения необходимых целенаправленных профилактических мероприятий. По данным отраслевой статистической отчетности (форма 40 – здоров) в период 2014 – 2015 гг. уровни специфических антител класса IgG к вирусу кори определяли в 2654 человек Кировоградской области, из них 40,7% проживали в городах и 59,3% в сельской местности: 266 человек (2004) 175 (2005); 320 (2006); 292 (2007); 301 (2008); 265 (2009); 123 (2010); 123 (2011); 123 (2012); 123 (2013); 138 (2014); 405 (2015). Доля лиц с защитными уровнями специфических антител колебались от 31,3% до 93,5% в различные годы исследования; с уровнями антител меньше защитных – от 0,8% до 42,2%; доля серо негативных лиц – от 0% до 26,5%. Серо негативные лица являются группой риска заболеваемости корью и требуют своевременной иммунизации против кори.

Ключевые слова: *профилактическая иммунизация, корь, вакцинация против кори, уровни антител к кори.*

УДК 616–079.4+616–039.31 + 616–079.7

ІВАНЧЕНКО Н.О.

ПРОБЛЕМА ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ КАШЛЮ У ДОРОСЛИХ ПАЦІЄНТІВ З КАШЛЮКОМ

Львівський національний медичний університет ім. Д.Галицького, м. Львів, Україна

В статті наводяться дані сучасної літератури стосовно захворювання на кашлюк дорослих осіб. Проаналізовано клінічний перебіг 39 випадків захворювання на кашлюк у дорослих мешканців Львівської області.

Ключові слова: кашлюк, кашель, вакцинація, диференційний діагноз.

Кашель у дорослих є дуже поширеним явищем. Причини кашля, з якими хворі звертаються по медичну допомогу до сімейного лікаря, є досить різноманітними. Це і тютюнопаління, і тривале вживання інгібіторів ангіотензинперетворюючого фермента, туберкульоз, хронічні обструктивні захворювання легень, рефлюксна хвороба, серцево-судинні захворювання, алергія, гострі захворювання верхніх та нижніх дихальних шляхів, рак легень, тощо [3,4]. Саме ці нозології відображені в уніфікованому протоколі первинної медичної допомоги «Кашель у дорослих», затвердженому наказом МОЗ України від 8 червня 2015 року №327. Проте, таке захворювання, як кашлюк, що відоме з XVI сторіччя, нерідко також є причиною кашлю у дорослих [1]. Зокрема, в Німеччині, частка кашлюку серед причин тривалого кашлю у дорослих складає від 5 до 15% [13]. Згідно даних CDC (Центру з контролю та профілактики інфекційних захворювань США), захворюваність на кашлюк продовжує реєструватися на високому рівні, не дивлячись на охоплення профілактичними щепленнями 95–97% населення. У 2017 році в США захворіло 15 808 людей, інтенсивний показник захворюваності на 100 тисяч населення (І.П.) склав 4.9, 3 429 випадків були зареєстровані серед дорослих (21,7%). Частка госпіталізованих серед захворілих в цілому склала 6.6%. серед захворілих дорослих – 7,6% [10].

В Україні за 2017 рік зареєстровано 2480 випадків кашлюку з інтенсивним показником на 100 тисяч населення 5.82, у Львівській області за аналогічний період захворіло 317 осіб (ІП – 12.55), з них 17 дорослих – 5,36%. В той же час в Україні та Львівській області відмічається негативна тенденція щодо охоплення профілактичними щепленнями, в тому числі проти кашлюку. За результатами моніторингу охоплення профілактичними щепленнями дітей віком до 1 року встановлено, що у 2006 році вакциновано 75,5% дітей, 2007 році – 98,9%, у 2008 році – 92,9% , у 2009 році – 74,4%, у 2010 році вакциновано лише 38,4%, в 2011 – 39,0%, в 2012 році – 64,2%, у 2013 – 68,3%, у 2014 – 60,9%, у 2015 році охоплено вакцинацією 24,0%, у 2016 лише 19,4%, у 2017 – 55.7%.

Збудником кашлюку є бактерія *Bordetella pertussis*. Описані також випадки захворювання, що викликані Bordetella bronchiseptica [9]. Джерелом інфекції є лише людина. Механізм передачі повітряно-краплинний. Зараження відбувається при розмові, кашлі, чханні інфікованої людини. Передача збудника інфекції через предмети побуту в літературі не описана. Людина є заразною від початку катаральних проявів і до 28 дня захворювання без антибіотикотерапії (за даними літератури і до 35), та до 5 дня захворювання при вживанні антибіотиків. Сприйнятливість до збудника кашлюку є високою – до 90% у невакцинованих людей [15,17,21]. На сьогоднішній день вакцинація в Україні здійснюється згідно Календаря профілактичних щеплень, затвердженого наказом МОЗ України від 18.05.2018 №. 947 «Про внесення змін до Календаря профілактичних щеплень в Україні».

Вакцинація проводиться за схемою 2-4-6-18 місяців. При порушенні Календаря, слід дотримуватись принципу мінімальних інтервалів між щепленнями – 30 днів, з метою завершення вакцинального комплекса до досягнення дітьми віку 6 років 11 місяців 29 днів. Вакцинація дорослих і підлітків в Україні носить рекомендований характер. В таких країнах як США, Франція, Австралія, для дорослих передбачена бустерна ревакцинація 1 раз в 10 років та вакцинація вагітних в 3-му триместрі для створення ефекту «Кокон» навколо новонародженої дитини до моменту її вакцинації[2, 12, 14]. Доведена ефективність ревакцинації дорослого населення з числа групи ризику проти кашлюку, до якої належать люди з хронічними захворюваннями легень, серця та цукровим діабетом [20]. В США існує практика вакцинації людей старше 65 років проти кашлюку, дифтерії, правця, гепатиту В [8]. Імунітет після вакцинації зберігається впродовж 7–11 років. Перенесений кашлюк не дає довічного імунітету [16, 17]. Власне дорослі з нерозпізнаним захворюванням на кашлюк становлять найбільшу небезпеку щодо розповсюдження захворювання через частий стертий перебіг. Атиповий перебіг можливий також у підлітків, які є джерелом інфекції для маленьких дітей в родинах [2, 9, 22].

При проникненні Bordetella pertussis на слизову оболонку носо-та ротоглотки, виникає локальний запальний процес, який поширюється на слизову трахеї, бронхіол та бронхів, розмножується в ділянці рефлексогенних зон. Також, формується домінантне вогнище збудження в кашльовому центрі довгастого мозку, яке підтримується завдяки імпульсам з запальних ділянок [6, 7]. Класичний перебіг кашлюку складається з інкубаційного періоду, який триває 7-11 днів, катарального періоду, тривалістю 3-7 днів, коли відмічаються прояви – нежить, охриплість голосу, покашлювання, відчуття «кому» в горлі, що найчастіше перебігає без підвищення температури тіла. Період розгорнутих клінічних проявів характеризується нападами сухого кашлю з утрудненим видихом, які можуть завершуватися блювотою, втратою свідомості, більше проявляються вночі. Тривалість 4-6 тижнів. Період реконвалесценції може тривати 6-8 тижнів і проявлятися кашлем різної інтенсивності [11]. Яскравий напад кашлю вночі, що завершується блювотою, як правило, не становить труднощів щодо встановлення діагнозу. Проте, кашель, що триває понад 2 тижні, навіть без нападів, що завершуються блювотою, потребує обстеження на кашлюк. В 2013 році в Іспанії було проведене дослідження, яке підтверджує, що саме такі випадки залишаються недіагностованими, що спотворює істину статистику захворювання на кашлюк серед дорослих та сприяє розповсюдженню кашлюку в суспільстві [7]. Окрім того, зростання числа захворювань пов'язують із генетичними змінами в структурі антигенів збудника кашлюку. Згідно літературних джерел 1 з 20 випадків кашлю у дорослих, що триває понад 2 тижні, є випадком кашлюку [17, 19].

Метою даної роботи було проаналізувати клінічні прояви кашлюку у дорослих мешканців Львівщини, яким був встановлений діагноз «Кашлюк» у 2016 – 2018 роках.

Матеріали і методи. Розроблено карту спостереження за дорослими пацієнтами з діагнозом «Кашлюк». Проаналізовано медичні карти стаціонарних хворих та амбулаторні карти хворих на кашлюк. Аналіз одержаних даних проведений з використанням параметричних методів оцінки.

Результати та обговорення.

У 2016 році кашлюк діагностовано у 7 дорослих осіб на Львівщині, в 2017 році діагноз був встановлений 17 дорослим, за 6 місяців 2018 року – 15-ти. Загалом, захворюваність на кашлюк серед усіх вікових груп населення Львівщини, реєструвалась наступним чином: у 2005 році зареєстровані 72 випадки захворювання з інтенсивним показником на 100 тисяч населення 2,7, у 2006 році — 107 випадків (І.П. – 4,1), у 2007 — 87 (І.П. – 3,4), у 2008 — 70 (І.П. – 2,5); у 2009 — 126 (І.П. – 4,96), у 2010 році — лише 42 випадки (І.П. – 1,65. Вже у 2011 році захворюваність зросла до 143 випадків (І.П. – 5,65); у 2012 — до 145 випадків (І.П. – 5,7). У 2013

році відмічалось зниження у 2,5 разу — до 49 випадків (І.П. – 2,3), а у 2014 — ріст до 129 випадків (І.П. – 5,1), у 2015 — до 196 випадків (І.П. – 8,0), у 2016 — до 283 випадків (І.П. – 11,23), у 2017 — до 317 (І.П. – 12,55).

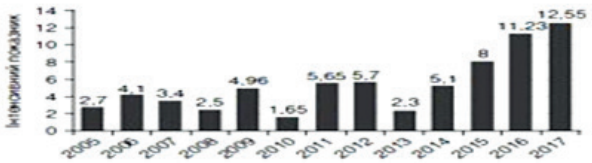

Рисунок 1. Захворюваність на кашлюк населення Львівської області на 100 тисяч населення

Під час спостереження за хворими на кашлюк у віці старше 18 років було встановлено, що субфебрильна температура в катаральному періоді відмічалась у 23,1% (9) осіб, на чхання скаржились 10.3% (4) пацієнтів, нежить відмічався в 28.2% (11), короткочасний сухий кашель в катаральному періоді відмічали 38.5% (15) осіб, відчуття «кому» в горлі спостерігалося в 46.2% (18) пацієнтів. Тривалість катарального періоду до 5 діб (3.62±0.96), відмічалась у 30.77% (12) пацієнтів, до 10 діб (8.25±0.96) у 10.3% (4), 43.6% (17) пацієнтів не відмічали клінічних проявів катарального періоду кашлюку. Серед провідних симптомів у пацієнтів були: пароксизмальний кашель – у 71.8% (28) пацієнтів, інспіраторна задишка – у 58.9% (23), блювота після нападів кашлю відмічалась лише в 12.8% випадків (5 осіб). Апное було у 2-х пацієнтів – 5,1% випадків. Про втрату свідомості повідомляли 3 пацієнтів – 7.7%. Тривалість періоду пароксизмального кашлю становила понад 4 тижні у 15.4% (6) пацієнтів, понад 6 тижнів у 5,1% (2) пацієнтів. Контакт з хворим на лабораторно підтверджений кашлюк був у 8 хворих (20.5%). Про контакт з особами, що тривало кашляли повідомили 16 пацієнтів (41%). З числа хворих 3 (7,7%) були вагітні у третьому триместрі вагітності. 8 пацієнтів (20.5%) вживали антибіотики до моменту звернення по медичну допомогу.

Додатково симптоми захворювання були оцінені відповідно до Анкети оцінки кашлю, Додатку 5 до Уніфікованого клінічного протоколу первинної медичної допомоги «Кашель у дорослих» табл. 1.

Таблиця 1. Оцінка симптомів захворювання у дорослих з тривалим кашлем

Симптоми	Абсолютні числа	Питома вага (%)
Тривалість кашлю		
Понад 2 тижні	31	79.4
Понад 4 тижні	6	15.4
Понад 6 тижнів	2	5.1
Попередні інфекції дихальних шляхів	2	5.1
Сухий кашель	32	82
Продуктивний кашель	3	7.7
Раптовий початок	8	20.5
Чи продукується слиз	16	41
Кашель в нічний час	6	15.4
Будить під час сну	6	15.4
Важко засинати	9	23
Чинники, що викликають кашель		
Фізичні вправи	1	2.6
Холодне повітря	3	7.7
Аерозолі	1	2.6
Підйом угору	1	2.6
Розмова/сміх/спів	11	28.2
Під час їжі	3	7.7
У певному положенні тіла	12	30.7
Медикаменти, що допомагають		
Безрецептурні препарати	10	25.6
Глюкокортикостероїди для внутрішнього вживання (перорально)	0	
Антибіотики	8	20.5
Кодеїн	0	
Інгаляційні препарати	2	5.1
Лікарські засоби від рефлексної хвороби	1	2.6
Спреї для носа	5	12.8
Гомеопатичні препарати	1	2.6
Додаткові симптоми ураження дихальної системи		
Хрипи	12	30.7
Задишка	23	58.9
Біль у грудній клітці	2	5.1

Пов'язані симптоми		
Печія/болі в епігастрії	1	2.6
Затікання слизу по задній стінці носоглотки	11	28.2
Зміна голосу	24	61.5
Анамнез (респіраторний)		
Хрипи в дитинстві	20	51.3
Алергічні реакції	4	10.3
Сімейний анамнез (вкажіть, чи були у ваших родичів випадки тривалого кашлю)	16	41
Медикаментозний анамнез		
Інгібітори АПФ	3	7.7
Бета-блокатори	4	10.3
Нестероїдні протизапальні	6	15.4

Відповідно до критеріїв CDC підозрілим випадком кашлюку слід вважати випадок кашлю, що триває понад 14 діб та супроводжується одним із симптомів: пароксизмальний характер кашлю, блювота після нападу кашлю, інспіраторна задишка, апное та не проводилось лабораторне обстеження на кашлюк, був відсутній контакт з хворим на лабораторно підтверджений кашлюк. Підтвердженим випадком кашлюку є випадок тривалого кашлю з виділенням культури *Bordetella pertussis* від хворого, або наявність клінічних ознак кашлюку та позитивний результат полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на наявність Bordetella pertussis в мазку з рото глотки, або наявність клінічних ознак кашлюку та контакт з хворим на лабораторно підтверджений кашлюк [9]. В Естонії, наприклад, запропоновано всі випадки тривалого (понад 7 діб) кашлю обстежувати на кашлюк [15].

Всі описані 39 зареєстрованих випадків захворювання на кашлюк серед дорослих були підтверджені лабораторно. У 26 випадках (66.7%) діагноз підтверджено дослідженням у ПЛР, у 10 випадках (25.6%) – були виявлені антитіла класу IgM до Bordetella pertussis методом імуноферментного аналіза, у 3 хворих (7.7%) були виявлені антитіла класу IgA до Bordetella pertussis. Мазки з задньої стінки глотки для дослідження методом ПЛР варто відбирати з перших днів захворювання до 28 дня при відсутності антибіотикотерапії та до 5 дня від початку антибіотикотерапії [9, 16]. Серологічне дослідження для виявлення IgM до Bordetella pertussis варто проводити не раніше 14 дня від початку захворювання, IgA – не раніше 28 дня захворювання [16].

Серед захворілих на кашлюк переважали жінки віком 25-40 років (табл. 2). Для 16 осіб з числа хворих на кашлюк, джерелом інфекції були власні діти, що хворіли на кашлюк. Жоден з них не приймав антибіотики з метою профілактики.

Таблиця 2. Розподіл хворих на кашлюк за віком та статтю

Вік/Стать	Абсолютне число	%
18-24 роки	9	23,1
25-40 років	19	48,7
41-60 років	8	20.5
Старше 60 років	3	7.7
Чоловіки	9	23.1
Жінки	30	76.9

Таким чином, відповідно до критеріїв CDC, наявність кашлю у цих батьків та факт лабораторного підтвердження кашлюку у дітей вже був підставою для встановлення діагнозу «Кашлюк». Лабораторне обстеження батьків на кашлюк яскраво підтвердило наявність даного захворювання.

Ступінь тяжкості кашлюку встановлюється відповідно до частоти пароксизмів кашлю. До 15 на добу – легкий, до 25 – середньої важкості, більше 25 – важкий. З 39 пацієнтів важкий перебіг кашлю відмічався у 4-х осіб (10,2%), середньої важкості – 15 (38.5%), легкий – 20 (51.3%). Розподіл хворих та ступенем тяжкості кашлюку наведений у табл.3.

Згідно даних огляду літератури в загальному аналізі крові хворих на кашлюк може відмічатися лейкоцитоз за рахунок лімфоцитоза [7]. Середній рівень лейкоцитів у хворих на кашлюк дорослих осіб становив 9,29, max 14,9 min 3,4 (табл. 4).

Таблиця 3. Розподіл хворих за ступенем тяжкості

Перебіг	Абс. число спосте-режень	%	M (середнє число нападів кашлю)	Середнє квадратичне відхилен-ня	m (стандарт-на похибка)	max	min
легкий	20	51.30	9.15	3.12	0.70	14	4
середній	15	38.50	19.20	2.60	0.67	24	16
тяжкий	4	10.20	42.00	10.10	5.05	56	32

Таблиця 4. Показники лейкоцитів у хворих на кашлюк

Перебіг	Абс. число спосте-режень	%	M (середнє число нападів кашлю)	Середнє квадратичне відхилення	m (стандарт-на похибка)	max	min
легкий	20	51.30	8.98	2.68	0.60	14.30	3.40
середній	15	38.50	8.55	2.41	0.62	12.10	3.80
тяжкий	4	10.20	13.65	1.52	0.76	14.90	11.50

Встановлена математично значима залежність між тяжким перебігом кашлюку та рівнем лейкоцитів, $p < 0,05$.

Серед 39 хворих ускладнення у вигляді пневмонії відмічалось у 3 осіб (7.7%). Згідно даних літератури можливими ускладненнями кашлюку у дорослих є отит, перелом ребер, гостре порушення мозкового кровообігу, енцефалопатія, спонтанний пневмоторакс [9].

Етіотропна терапія здійснювалась з застосуванням антибіотиків впродовж 5-7 діб. Згідно сучасних рекомендацій до першої лінії антибіотиків належать макроліди (азитроміцин, кларитроміцин, еритроміцин). До другої лінії належить триметоприм/сульфаметоксазол [18].

Не дивлячись на те, що в 16 осіб був встановлений факт контакту з хворим на кашлюк, антибіотикопрофілактика препаратами групи макролідів не проводилась всупереч рекомендаціям [9].

Висновки. Кашель у дорослих, що триває понад 14 діб потребує настороженості медиків щодо обстеження на кашлюк та призначення етіотропної терапії. Своєчасне профілактичне лікування контактних сприятиме зниженню захворюваності на кашлюк.

ЛІТЕРАТУРА

1. Васильєва Н. А. Кашлюк у дорослих / Н. А. Васильєва, С. В. Сніцаренко. // Інфекційні хвороби. – 2017. – №2. – С. 59–63.

2. Лапій Ф. І. Еволюція поглядів щодо вакцинації для профілактики кашлюку. / Федір Іванович Лапій. // Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. – 2013. – С. 3–6.

3. Мостовий Ю.М. Кашель у дорослих. Уніфікований протокол. Клінічна настанова. Актуальність. / Ю.М. Мостовий. // Здоров'я України ІнфоМедіа. – № 17 (390). – 2016. – С. 8–10.

4. Кузнецова Т.Ю. Проблема дифференциальной диагностики кашля у взрослого пациента с коклюшем (клиническое наблюдение). / Т.Ю. Кузнецова, Ю.И. Журавлев, Т.Н. Пономаренко, В.Н. Тхорикова. // Пульмонология. Аллергология Человек и лекарство. – 2016. – С. 89–92.

5. Хімеон Л.В. Ефективне і безпечне лікування сухого кашлю – актуальна проблем загальної практики / Л.В. Хімеон, О.В. Ященко. // Сімейна медицина. – 2015. – С. 104–109.

6. Adult pertussis is unrecognized public health

problem in Thailand/ N. Siriyakorn, P. Leethong, T. Tantawichien [et al.] // BMC Infect. Dis.– 2016. – Vol. 16. – P. 25. doi: 10.1186/s12879-016-1357-x.

7. Assessment of clinical symptoms in household contacts of confirmed pertussis cases / [A. Domínguez, N. Soldevila, J. Caylà та ін.]. // J Infect.. – 2017. – №75. – С. 426–432. doi: 10.1016/j.jinf.2017.08.008.

8. Burke M. Vaccinations in Older Adults. / M. Burke, T. Rowe. // Clin Geriatr Med.. – 2018. – №34. – С. 131–143. doi: 10.1016/j.cger.2017.08.006.

9. Communicable Disease Control Chapter I – Management of Specific Diseases Pertussis [Електронний ресурс] // Centers for Disease Control and Prevention. – 2014. – Режим доступу до ресурсу: *https://www.cdc.gov/pertussis/clinical/treatment.html*

10. CDC. 2017 Provisional Pertussis Surveillance Report [Електронний ресурс] / CDC // Provisional 2017 Reports of Notifiable Diseases. – 2018. – Режим доступу до ресурсу: *https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/66/wr/mm6652md.htm?s_cid=m–m6652md_w.*

11. Epidemiology of pertussis in adults and related factors in Tianjin, 2005–2014 / H. T. Huang, Z. G. Gao, Y. Liu [et al.] // Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. – 2016. – Vol. 37, N 5. – P. 678-681. doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.05.018.

12. Immunization Practices of U.S. Obstetrician/ Gynecologists for Pregnant Patients / [S. O'Leary, L. Riley, M. Lindley та ін.]. // Prev Med. – 2016. – №54. – С. 205–213. doi: 10.1016/j.amepre.

13. Long-lasting cough in an adult German population: incidence, symptoms, and related pathogens. / [R. Weinberger, M. Riffelmann, N. Kennerknecht та ін.]. // Clin Microbiol Infect. – 2018. – №37. – С. 665–672.. doi: 10.1007/s10096-017-3158-6.

14. Pertussis immunization within three adult populations concerned by cocoon strategy in Île-de-France / [M. Lempereur de Guerny, M. Scauflaire, D. Crabot та ін.]. // Rev Epidemiol Sante Publique. – 2017. – №65. – С. 389–395. doi:10.1016/j.respe.2017.06.007.

15. Pertussis and parapertussis in children and adults with a persistent cough: an observational study / [P. Jõgi, M. Oona, T. Kaart та ін.]. // Infection. – 2018. – №46. – С. 83–91. doi: 10.1007/s15010-017-1095-z.

16. Prevention and assessment of infectious diseases among children and adult migrants arriving to the European Union/European Economic Association: a protocol for a suite of systematic reviews for public health and health systems / [K. Pottie, A. Mayhew, R. Morton та ін.]. // BMJ. – 2017. – №7. doi: 10.1136/bmjopen-2016-014608.

17. Serological evaluation of Bordetella pertussis infection in adults with prolonged cough / C. Sönmez, N. Çöplü, A. Gözalan [et al.] // Mikrobiol. Bul. – 2016. – Vol. 50, N 3. – P. 361-370.

18. Trends in the Minimum Inhibitory Concentrations of Erythromycin, Clarithromycin, Azithromycin, Ciprofloxacin, and Trimethoprim/Sulfamethoxazole for Strains of Bordetella pertussis isolated in the Czech Republic in 1967-2015. / V.Jakubů, J. Zavadilová, K. Fabiánová, P. Urbášková. // Cent Eur J Public Health.. – 2017. – №25. – С. 282–286. doi: 10.21101/cejph.a4948.

19. Ukena D. Bronchial Asthma: Diagnosis and Long-Term Treatment in Adults [Електронний ресурс] / D. Ukena, L. Fishman, W. Niebling // Continuing Medical Education. – 2017. – Режим доступу до ресурсу: *PMCID: PMC2696883 PMID: 19626179.*

20. Using the 4 Pillars to increase vaccination among high-risk adults: who benefits? / [M. Nowalk, K. Moehling, S. Zhang та ін.]. // Manag Care. – 2017. – №23. – С. 651–655. PMID: 29182350

21. Whooping cough in adults: a series of severe cases / [K. Zycinska, M. Cieplak, M. Chmielewska та ін.]. // Adv. Exp. Med. Biol. – 2017. – №955. – С. 47–50. doi: 10.1007/5584_2016_167.

22. Wensley A. . Risk factors for pertussis in adults and teenagers inEngland / A. Wensley, G. Hughes, H. Campbell. // Epidemiol Infect. – 2017. – С. 1025–1036. *doi: 10.1017/S0950268816002983.*

ПРОБЛЕМА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ КАШЛЯ У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С КОКЛЮШЕМ

Иванченко Н.А.

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина

В статье представлены данные современной литературы о заболевании коклюшем взрослых. Описаны результаты анализа 39 случаев заболевания коклюшем взрослых жителей Львовской области.

Ключові слова: *кашель, коклюш, вакцинация, дифференциальная диагностика.*

PROBLEM OF DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF COUGH IN ADULT PATIENTS WITH PERTUSSIS

Ivanchenko N.O.

Danylo Halytsky Lviv National Medical Univercity, Ukraine

The article gives the data of modern literature concerning the pertussis in adult. The results of analysis of 39 cases of Pertussis in adult from Lviv Oblast are presented.

Key words: *pertussis, tussis, vactination, differential diagnosis..*

УДК 616.009+616.02–03+616.06+616.9

Л.В. Муравська, П.А. Дьяченко, А.О. Руденко.

КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕНЬ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ВИКЛИКАНОЇ ВІРУСОМ ВАРІЦЕЛЛА – ЗОСТЕР.

ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського НАМН України», Київ, Україна

У дослідженні представлені результати клінічного спостереження 117 хворих на варіцелла–зостер вірусні ураження нервової системи. Серед пацієнтів переважали жінки молодого віку. Основною клінічною формою ураження нервової системи при оперізувальному герпесі були гангліоніти та гангліорадикулоневрити. Також спостерігались ізольовані ураження окремих нервів, увеїти, енцефаліти та васкуліти головного мозку. Наведені два клінічних випадки з нетиповим перебігом варіцелла–зостер–вірусної інфекції.

Ключові слова: варіцелла–зостер вірус, гангліоніт, гангліоневрит, синдром Рамсей–Ханта

Віруси герпесу – найпоширеніші віруси, здатні спричинити ураження нервової системи. Вірус варіцелла-зостер (VZV) є одним із них, який має епітеліотропні і нейротропні властивості. Цей вірус визнаний одним із найпоширеніших вірусних агентів, що викликають ураження центральної нервової системи, що включають широкий спектр синдромів, таких як енцефаліт, менінгіт, Синдром Рамсай-Ханта з лицьовим паралічем і васкуліт з інсультоподібними симптомами [2, 6, 7, 9, 11].

Останніми роками відзначається збільшення кількості хворих на оперізувальний герпес (ОГ) не тільки серед осіб похилого віку, але й відмічається зсув захворюваності в бік середнього і молодого віку [8, 12]. Після первинної інфекції вірус довічно персистує в нервових гангліях черепних нервів, спинного мозку, гангліях черевного сплетення вегетативної нервової системи та клітинах нейроглії. VZV здатний реплікуватися в церебральних артеріях, викликаючи макроваскулопатію і VZV-асоційовану хворобу малих судин [1, 12]. При макроваску-

лопатії розвивається гранульоматозний ангіїт, який призводить до інсульту [3, 5]. VZV-асоційована хвороба малих судин має такі прояви як мігрень, судоми, паралічі, когнітивні порушення. ОГ переважно є своєрідним маркером імунодефіциту [4, 10].

Метою роботи було вивчення клінічних проявів ураження нервової системи VZV етіології.

Матеріали і методи. Під нашим спостереженням знаходилось 117 хворих віком від 18 до 74 років, у яких встановлено ураження нервової системи, викликаних VZV. Серед обстежених хворих було 62 (53,4%) осіб жіночої і 55 (46,5%) чоловічої статі. Переважали особи молодого віку. VZV-ураження нервової системи діагностували на основі наявності у пацієнтів типової екзантеми, клініко-неврологічного аналізу, нейровізуалізації, а також виявлення маркерів VZV- інфекції (вірусної ДНК та антитіл класу IgM).

Результати та їх обговорення.

Основною клінічною формою ураження нервової системи при ОГ були гангліоніти та гангліорадикулоневрити – 81 пацієнт (69,8%). Краніальні гангліоневрити виявлені у 36 пацієнтів (31,0%). Найбільш часто спостерігали гангліоніт Гасерова вузла – 28 (24,0%) пацієнтів, рідше – колінчастого вузла – 8 (6,8%). Ізольоване ураження першої гілки трійчастого нерва було у 21 хворого, другої – у 5, третьої – у 2. Больовий синдром по локалізації збігався з ділянкою герпетичних висипань, супроводжувався дифузним головним болем. У 9 хворих з ураженням першої гілки трійчастого нерва розвився кон`юктивіт на стороні ураження, у 2 – кератит, у одного – увеїт. При ураженні другої та третьої гілок трійчастого нерва висипання були також на слизових піднебіння, внутрішній поверхні щоки, губ. У 3 хворих відмічались парези м`язів ока.

У 8 хворих діагностовано ураження колінчатого вузла і барабанної струни – синдром Рамзея-Ханта. В процес був залучений вестибулярний, трійчастий, лицевий та під`язиковий нерви. Висипання локалізувались на шкірі вушної раковини, зовнішнього слухового проходу, передній поверхні язика, задній поверхні піднебіння. Спостерігались вестибулярні розлади, порушення слуху, периферичний парез мімічної мускулатури з болями невралгічного характеру, парез м'якого неба і порушення ковтання.

Спінальні гангліоніти відмічені у 45 (38,7%) хворих, з них нижньошийна і верхньогрудна локалізації були у 9, грудна – у 30, попереково-крижова – у 6. При гангліонітах нижньошийної і верхньогрудної локалізації домінував пекучий біль в руці, відчуття набряку кисті, парези м`язів рук. Болі оперізуючого характеру, парестезії відмічались в усіх хворих при ураженні грудних гангліїв, у 3 випадках розвилась слабкість черевної стінки, зниження тонусу м`язів, що імітувало наявність об`ємного утворення в черевній порожнині. У 26 хворих спостерігалось ураження декількох чутливих вузлів. У 4 хворих розвились спастичні парези, порушення функції тазових органів по центральному типу.

При герпетичному гангліоніті попереково-крижової ділянки висипання локалізувались на шкірі попереку, сідниць, нижніх кінцівок, супроводжувались значним больовим синдромом, симптомами натягу корінців спінальних нервів, слабкістю нижніх кінцівок, порушенням сечопуску і акту дефекації, що розцінювалось як мієлогангліоніт.

Менінгоенцефаліт розвився у 6 хворих, у 3 – на фоні ураження Гасерова вузла, у 3 – при ураженні спінальних гангліїв грудного відділу. В 2-х випадках VZV-енцефаліт не супроводжувався ураженням інших відділів нервової системи. У всіх пацієнтів мали місце загальномозкові симптоми, менінгеальні контрактури помірно виражені були у 11 хворих. В ліквор відзначали лімфоцитарний плеоцитоз. У 13 хворих діагностовано менінгіт з висипаннями в ділянках спінальних дерматомів. У однієї хворої 18 років при ураженні першої гілки Гасерова вузла на сьомій неділі від початку захворювання розвився контрлатеральний геміпарез. При проведенні ультразвукової діагностики інтракраніальних судин виявлено зниження швидкості кровотоку в системі середньої мозкової артерії на стороні герпетичного ураження, ознаки венозної дисциркуляції. Випадок розцінювали як розвиток церебрального ангіїту.

Участь VZV в ураженнях нервової системи тяжко

встановити при розвитку неврологічної симптоматики за відсутності типових екзантеми і вказівки на ОГ в анамнезі. У 10 (8,6%) хворих були радикулярні болі в грудних дерматомах без вказівки на ОГ в анамнезі. У 5 (4,3%) хворих з цефалгічним синдромом, когнітивними порушеннями, множинними невеликими вогнищами субкортикально в білій речовині півкуль діагностовано VZV-васкулопатію. Типова екзантема в анамнезі була відсутня. При дослідженні ліквору виявляли специфічні антитіла та ДНК VZV.

Клінічний випадок 1. Хворий С., 34 років, інвалід III групи, надійшов до відділення нейроінфекцій ДУ ІЕІХ НАМНУ 07.09.2017 р зі скаргами на різку слабкість в лівих кінцівках, зниження зору на ліве око, двоїння в очах, зниження слуху на ліве вухо, головні болі, слабкість, запаморочення, зниження працездатності і координації, субфебрилітет. З анамнезу хвороби відомо, що хворіє з середини серпня 2017 р, коли під час перебування у Київський МКЛ №12 з приводу кетоацидозу різко виникли скарги на зниження зору і слуху на лівій стороні, слабкість в лівих кінцівках. Був консультований неврологом, спрямований на МРТ (об'ємне утворення мозочка, t-r?). Направлений на консультацію до Інституту нейрохірургії, звідки був спрямований на консультацію в Центр інфекційних уражень нервової системи ДУ ІЕІХ НАМНУ з діагнозом: вогнищеве ураження головного мозку, ймовірно інфекційного генезу. З анамнезу життя: хворіє на хронічний гастродуоденіт, остеохондроз хребта, інсулінзалежний цукровий діабет (з 2013 р), стадія декомпенсації, кетоацидоз. У 2013 році була проведена лапаротомія з резекцією кісти підшлункової залози. Також відмічає зловживання алкоголем. Вітряною віспою хворів у дитинстві.

При надходженні: загальний стан середньої тяжкості. Емоційно лабільний, контактний, на питання відповідав адекватно. Шкірні покриви і слизові звичайного кольору, слизова зіву гіперемована. Ін'єкція судин склер. Зіниці однакові, фотореакція не знижена, тремор повік, при конвергенції не доводив обидва ока (більше правий), лівий, горизонтальний

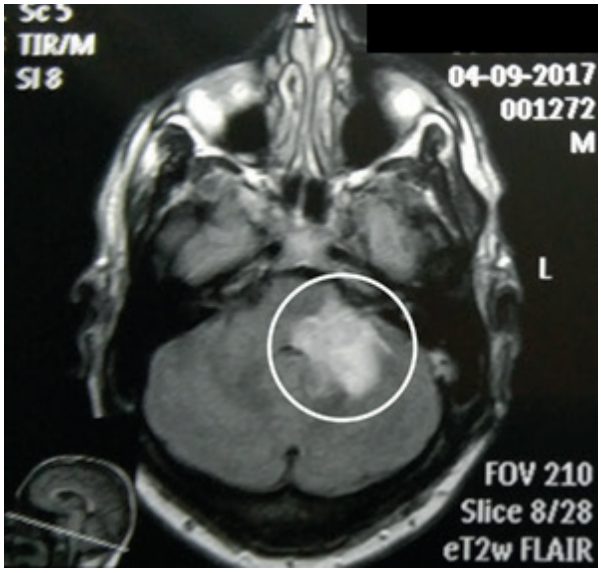

Рисунок 1. МРТ-картина вогнища запалення у мозочку та його ніжках, з ураженням стовбуру мозку при надходженні у стаціонар.

ністагм (більше ліворуч). Птоз лівої повіки. Згладженість лівої носогубної складки. Девіація язика та язичка ліворуч. М'язова сила знижена на лівих кінцівках (рука до 3 балів, нога до 2 балів). Черевні рефлекси відсутні. Сухожильні рефлекси на верхніх кінцівках живі, S>D, на нижніх живі S>D. Позитивна проба Барре. Симптоми Гордона, Штрюмпеля Шарапова, Бабинського були позитивні ліворуч. Менінгеальні симптоми не виявлялись. Координаторні проби з легкої інтенцією. У позі Ромберга падав вліво і назад. Функція тазових органів не була порушена.

При обстеженні підчас надходження до стаціонару в аналізі крові спостерігався лейкоцитарний нормоцитоз ($5*10^9$/л) з відносним лімфоцитозом (50%), підвищення гамаглутамілтрансферази (59,8 Од/л), гіперглікемія (15,9 ммоль/л). Також були виявлені антитіла IgM VZV та підвищений рівень аутоантитіл до нейроантигенів (до ОБМ – 42,8 Од/мл, S-100 – 13,9 Од/мл, NSE – 32,8 Од/мл, ЗЛМА – 37 Од/мл). У спінномозковій рідині спостерігався лімфоцитарний нормоцитоз, рівень білка складав 0,33 г/л, рівень глюкози – 6,8 ммоль/л. Мікрофлора, ДНК герпесвірусів, токсоплазми та мікобактерії туберкульозу не виявлені.

Хворому був встановлений наступний діагноз:

енцефаліт з ураженням структур мозочку та стовбуру мозку, вираженим вистибуло-атактичним, церебрастенічним с-мами, лівобічним геміпарезом, явищами полінейропатії, на фоні VZV-інфекції в стадії активації. Цукровий діабет першого типу, тяжкий перебіг, стадія декомпенсації. Хронічний гастродуоденіт. Остеохондроз поперекового відділу хребта.

Було призначене наступне лікування: ацикловір 1500 мг/д внутришньовенно крапельно, людський внутришньовенний імуноглобулін, нейропротективна, гепатопротективна, протизапальна терапія. На тлі лікування стан хворого покращувався: зростала м'язова сила, нормалізувався зір та слух, практично зникли явища полінейропатії, атактичного синдрому, нормалізувався рівень глюкози у крові (без корекції інсулінотерапії). В аналізі крові від 20.09.2017 року антитіла IgM VZV не виявлені. Хворий був виписаний на подальше амбулаторне лікування. Через 3 місяці після виписки при контрольному обстеженні маркерів активності VZV-інфекції не виявлено. Рівень аутоантитіл до нейроантигенів майже нормалізувався, на МРТ-картині виявлені залишкові явища запалення у мозочку (рис. 2).

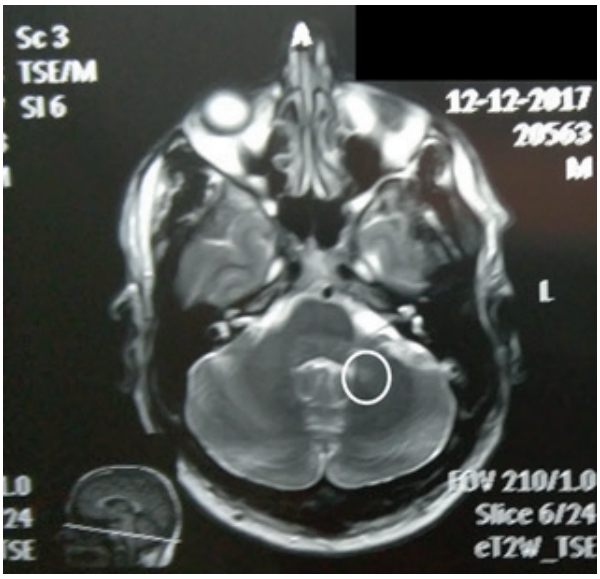

Рисунок 2. МРТ-картина залишкових явищ запалення у мозочку через 3 міс. після виписки з стаціонару.

Клінічний випадок 2. Хвора С., 21 р., захворіла 10.11.2017 р., коли на фоні головної болі та гіпертермії до 37,8 С, з'явився масивний герпетичний висип в ділянці лоба і верхнього повіка ліворуч. Була госпіталізована у неврологічне відділення з діагнозом: герпес-зостер-вірусна інфекція у формі оперезуючого лишаю області обличчя ліворуч, тяжкий перебіг, блефарокон'юктивит. На фоні лікування (ацикловір в/в та per os, вітаміни групи В, анальгетики), больовий синдром регресував, елементи сипу відцвітали. Зберігалась гіперемія та набряк повік лівого ока. Хвора виписана на 10 день з рекомендацією продовжити прийом ацикловіру протягом 7 діб. 19.01.2018, на 70-й день від початку захворювання стан погіршився: з'явилось відчуття оніміння та слабкість у правих кінцівках, когнітивні порушення. Хвора була госпіталізована у відділення нейроінфекцій ДУ «ІЕІХ НАМН України». При надходженні: хвора у свідомості, орієнтована у просторі, подразлива. Стан середньої тяжкості, пігментація в області іннервації першої гілки трійчастого нерву ліворуч. Ін'єкція судин склери та гіперемія кон'юктиви лівого ока, витончення лівої брови. Анізокорія S>D, знижений корнеальний рефлекс ліворуч, гіпестезія у ділянці іннервації першої гілки трійчастого нерву ліворуч, недостатність іннервації мімічної мускулатури праворуч за центральним типом, девіація язика праворуч, правобічний геміпарез. Сухожильні та періостальні рефлекси D>S, черевні D<S.Симптом Бабинського праворуч. Менінгеальних ознак не виявлено. У СМР: цитоз 1 кл, білок 0,33 г/л, виявлена ДНК VZV. В клінічних аналізах крові та сечі без відхилень. ЕЕГ: помірні дифузні зміни біоелектричної активності мозку у вигляді дезорганізації коркових ритмів, поодинокі тета-хвилі, фокальних змін та ознак судомної готовності не виявлено. РЕГ: пульсове кровонаповнення у лівій півкулі знижене, ускладнений венозний відтік. При проведенні транскраніальної доплерографії інтракранеальних судин виявлено зниження кровотоку у лівій внутрішній сонній артерії. При МРТ даних за вогнищеву патологію не виявлено. При ехо-ЕГ м-ехо не зміщене, ширина 3-го шлуночку у межах норми, доповнюю-

чи сигнали з двох боків. Був встановлений наступний діагноз: VZV-васкуліт судин головного мозку, з правобічним геміпарезом та гемігіпестезією. Була призначена противірусна (ацикловір внутришньовенно крапельно 1500 мг/д), судинна, антиагрегантна, дегидратуюча терапія, ноотропи. Протягом 3-х тижнів лікування загальний стан нормалізувався, неврологічна симптоматика нівелювалась. Хвора виписана в задовільному стані.

Висновки. Найбільш частими клініко-неврологічними варіантами ОГ були гангліоніти (69,7%), краніальна локалізація була у 31% хворих, спінальна – 38,7%, ураження мозкових оболонок – у 16,3% Необхідно проводити люмбальну пункцію у хворих на оперізуючий герпес, особливо з ураженням краніальних гангліїв. Відсутність типової екзантеми не виключає можливості ураження нервової системи VZV і потребує цілеспрямованого використання методів встановлення етіології процесу, дослідження спинномозкової рідини на ДНК і специфічні антитіла.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дьяченко П.А. Как вирусу простого герпеса удается пожизненно персистировать в организме хозяина? / П.А. Дьяченко, А.Г. Дьяченко // Вісник СумДУ, серія Медицина. – 2011.–№1.–С.19-31.

2. Руденко А.О. Ураження нервової системи, спричинені вірусами простого герпесу та варіцелла зостер / А.О. Руденко, Л.В. Муравська, Л.І. Гетьман, О.А. Карловський // Сімейна медицина.– 2008.– №4.– С.32-36

3. Aberle S.W. Quantitative real time PCR detection of Varicella-zoster virus DNA in cerebrospinal fluid in patients with neurological disease. / S.W. Aberle, J.H. Aberle, C. Steininger, E. Puchhammer-Stockl // Med Microbiol Immunol. – 2005. – Vol.194 (1-2).– P.7-12. – Режим доступу: *https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14997388*

4. Comparison of quantitations of viral load in varicella and zoster. / H. Kimura, S Kido, T. Ozaki, N. Tanaka [et al] // J Clin Microbiol. – 2000. – Jun;38(6). – P.2447-2449. *https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10835029*

5. Furuta Y Quantitation of varicella-zoster virus DNA in patients with Ramsay Hunt syndrome and zoster sine herpete. / Y. Furuta, F. Ohtani, H. Sawa, S. Fukuda, Y. Inuyama. //J Clin Microbiol.– 2001.– Vol. 39(8). – P. 2856-2859. – Режим доступу: *http://dx.doi.org/10.1128/JCM.39.8.2856–2859.2001.*

6. Granerod J. Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: a multicentre, population-based prospective study. / J. Granerod, H.E. Ambrose, N.W. Davies, J.P. Clewley, A.L. Walsh, D. Morgan [et al.] // Lancet Infect Dis.– 2010.– Vol. 10(12). – P. 835- 844. – 3 екрану:. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70222-X. Epub 2010 Oct 15

7. Mailles A. Long-term outcome of patients presenting with acute infectious encephalitis of various causes in France. / A. Mailles, T. De Broucker, P. Costanzo, L. Martinez-Almoyna, V. Vaillant, J.P. Stahl. // Clin Infect Dis. – 2012. – Vol.54(10). – P.1455-1464.– Режим доступу:*http://dx.doi.org/10.1093/cid/cis226.*

8. Nagel Maria. Varicella Zoster Virus Vasculopathy. / Maria Nagel, Andrew Bubak //The Journal of Infectious Diseases. – 2018. – Vol. 218, Issue suppl 2(22). – P. 107–112

9. Persson A. Varicella-zoster virus CNS diseaseeviral load, clinical manifestations and sequels. / A Persson, T. Bergstrom, M Lindh [et al] // J Clin Virol. – 2009. – Vol. 46(3) – P. 249-253.3 екрану: *http: // dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2009.07.014.*

10. Scott F.T. A study of shingles and the development of postherpetic neuralgia in East London. / Scott F.T, Leedham-Green ME, Barrett-Muir WY, Hawrami K, Gallagher WJ, Johnson R, [et al. // J Med Virol. – 2003. – Vol. 70 (Suppl. 1). –.S 24-30. 3 екрану *http: //dx.doi.org/10.1002/jmv.10316.*

11. Sundstrom K. Incidence of herpes zoster and associated events including stroke-a population-based cohort study. /K. Sundstrom, C.E. Weibull, K. Soderberg-Lofdal [et al].// BMC Infect Dis .–2015. Vol. 15(1) – P. 488. 3 екрану: *http: //dx.doi.org/10.1186/*

s12879–015–1170–y.

12. Quinlivan M.L. Persistence of varicella-zoster virus viraemia in patients with herpes zoster. / M.L. Quinlivan, K.L. Ayres, P.J. Kelly, S.P. Parker, F.T. Scott, R.W. Johnson [et al.] // J Clin Virol. – 2011. – Vol. 50(2). – P.130-135. – *http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2010.10.014.*

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОРАЖЕНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ВАРИЦЕЛЛА - ЗОСТЕР ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ.

Л.В. Муравская, П.А. Дьяченко, А.А. Руденко

ГУ «Институт эпидемиологи и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины», Киев, Украина

В исследовании представлены результаты клинического наблюдения за 117 больными с варицелла-зостер вирусными поражениями нервной системы. Среди пациентов преобладали женщины молодого возраста. Основной клинической формой поражения нервной системы при опоясывающем герпесе были ганглиониты и ганглиорадикулоневриты. Также наблюдались изолированные поражения отдельных нервов, увеиты, энцефалиты и васкулит головного мозга. Приведены два клинических случая с нетипичным течением варицелла-зостер-вирусной инфекции.

Ключевые слова: *варицелла–зостер вирус, ганглионит, ганглионеврит, синдром Рамсей–Ханта, васкулит, энцефалит.*

CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE ISSUES OF THE NERVOUS SYSTEM, CAUSED BY VARICELLA-ZOSTER VIRUS.

L.V. Muravskaya, P.A. Dyachenko, A.A. Rudenko

SI "L.V.Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine ", Kiev, Ukraine

The study presents the results of a clinical observation of 117 patients with varicella-zoster viral lesions of the nervous system. Among the patients, women of young age prevailed. The main clinical form of damage to the nervous system in herpes zoster was ganglionitis and ganglioradiculoneuritis. Isolated lesions of individual nerves, uveitis, encephalitis and brain vasculitis were also observed. These are two clinical cases with an atypical course of varicella-zoster virus infection.

Key words: *varicella–zoster virus, ganglionitis, ganglioneuritis, Ramsey–Hunt syndrome*

УДК 616.216+579. / 001.53:001.891.5: 66–966.1+614.48

В.Ф. Марієвський, О.В. Мурашко

ВИЗНАЧЕННЯ ВІРУЛЕНТНОСТІ ШТАМУ *S. TYPHIMURIUM* В ПОРІВНЯННІ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО СФОРМОВАНОЮ ПІДВИЩЕНОЮ СТІЙКІСТЮ ЦЬОГО ШТАМУ ДО ДІЇ ДЕЗІНФЕКТАНТУ З ГРУПИ ЧЕТВЕРТИННИХ АМОНІЄВИХ СПОЛУК - СЕПТОДОР.

ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України"

У штамів S. typhimurium виділених від пацієнтів з високою чутливістю до дії дезінфектанту з групи ЧАС – Септодор штучно сформована виражена резистентність до нього шляхом проведення пасажів на м'ясо–пептонному бульйоні з додавання суббактерицидних доз вказаного деззасобу. Визначено рівень вірулентності у вихідного штаму та штаму із сформованою резистентністю. Встановлено, що вже через 40 пасажів S. typhimurium мінімально бактерицидна концентрація Септодору перевищувала концентрацію, визначену у вихідного штаму в 17 разів. Рівень вірулентності у штаму із сформованою резистентністю знизився, однак продовжував спричиняти диссимінацію збудника у внутрішніх органах піддослідних тварин

Ключові слова: вірулентність, чутливість до дезінфектанту, штами S. typhimurium

Виходячи з сучасних знань в комплексі заходів спрямованих на боротьбу та профілактику інфекційних хвороб дезіфектологічним аспектам повинно бути приділено особливе значення як заходам неспецифічної профілактики, спрямованих на розрив механізму передачі інфекції. Основною задачею дезінфекції є знищення або регуляція кількості мікроорганізмів - збудників різних інфекцій в навколишньому середовищі, куди вони потрапляють з організму людини або тварини як джерела збудників інфекцій [3] оскільки, значна кількість збудників різних інфекцій в навколишньому середовищі здатні не лише тимчасово зберігатись, а й персистувати [5].

Слід зазначити, що збудник це живий організми, як правило не такий складний як хазяїн, але з безліччю найрізноманітніших спадкових факторів які, як і всі біологічні об'єкти, попадають у відбір та мають достатньо досконалі та різноманітні механізми самозахисту не залежно від місця перебування їх, чи то в організмі хазяїна або в навколишньому середовищі.

Мікроорганізм, перебуваючи в макроорганізмі взаємодіє з його складною генетичною системою. Будучи, в свою чергу, живим організмом як правило, менш складним, як хазяїн, але з безліччю найрізноманітніших спадкових факторів, які вступають як і всі біологічні об'єкти у відбір. Звичайно виходи з такої взаємодії є дуже різноманітні. Тому, з біологічної точки зору, інфекційний процес – це не просто взаємодія паразита (інфекційного агента) та хазяїна (макроорганізм), а зіткнення двох геномів, кожен з яких проходив свою еволюцію.

Причому, швидше і простіше еволюціонує паразит і у нього за визначенням завжди більш короткий життєвий цикл і він проходить набагато більше поколінь за той час поки хазяїн проходить одне. Тому на початку інфекційного процесу і наприкінці ми маємо справу з не зовсім однаковою популяцією збудників. Еволюція паразита продовжується і за межами організму - в навколишньому середовищі, часто не лише несприятливе для мікроорганізму, а навіть з впливом на нього ряду природних та штучних факторів спрямованих на його знищення. Виживання збудників в цих умовах можливе лише

за умов інтенсивних селекційних процесів, що відбуваються в ньому. Таким чином і проходить формування та поширення резистентних штамів до протимікробних препаратів, в тому числі госпітальних штамів які знову потрапляючи в макроорганізм є етіологічними чинниками епідемічного процесу [4,6]

Така багато чисельна циркуляція збудників через макроорганізм та зовнішнє середовище призводить до постійної зміни біологічних властивостей паразита, в першу чергу, спрямованих на самозахист.

На сучасному етапі боротьби з інфекційними хворобами, їх лікування та профілактики ряд ознак та особливостей збудників, що практично постійно перебувають в динамічних змінах моніторується (резистентність до антибіотиків та дезінфектантів). Однак дослідження патогенних та вірулентних властивостей є в більшості випадків лише результатом наукових досліджень. В той же час вірулентність – це динамічна, індивідуальна властивість даного штаму мікроорганізму викликати розвиток інфекційного процесу. Це міра патогенності її якісна характеристика, або фенотипічний прояв генотипу збудника. По цьому признаку всі штами виду мікробу розділяють на високо-, помірно- та авірулентні. Крім того високо вірулентні штами викликають як правило інфекційний процес з більш тяжким перебігом, слабо- та авірулентні – інфекційний процес перебігає у легкій та прихованій (безсимптомній) формі. Тому визначення вірулентних властивостей має не лише прогностичне значення характеру інфекційного процесу, а й епідеміологічне, оскільки перебіг інфекції з слабо вираженими симптомами, або безсимптомно не привертають до себе уваги і часто не діагностуються.[6]

Тому метою даної роботи було визначення зміни вірулентних властивостей штаму *S. typhimurium* 1034/38с з штучно сформованою підвищеною резистентністю у нього до дії дезінфекційного засобу Септодор з групи четвертинних амонієвих сполук, в порівнянні з вірулентністю вихідного штаму.

Про вірулентність патогенних бактерій в експериментальних умовах, крім багатьох інших показників, судять по величині дози інфекційного агента, яка здатна викликати інфікування і загибель експериментальних тварин [9]. При цьому вважається, що найбільш точною величиною, яка характеризує вірулентність є 50 % летальна доза (LD_{50}).

Діапазон коливання LD_{50} для окремих штамів певного виду мікроорганізмів може бути досить широким – від низьковірулентних до високовірулентних характеристик. В роботі Моложавої О.С. [8] наведені характеристики вірулентності окремих штамів сальмонел, які коливалися від LD_{50} - $2{,}9 \cdot 10^3$ м.кл. у високовірулентного для мишей штама до LD_{50} - $5{,}6 \cdot 10^8$ м.кл у низьковірулентного варіанту штаму.

Матеріали і методи

Дослідження вірулентності штамів, резистентних до дії дезінфектантів, були проведені на мікроорганізмах серогрупи *S. typhimurium*. Штами *S. typhimurium* є збудниками мишиного тифу. До них високочутливі білі миші та щури, у яких при зараженні наступає септицемія.

Вихідний штам *S .typhimurium* 1041 – грамнегативна, дрібна паличка, росте на МПА у вигляді блискучих округлених колоній діаметром 1-2 мм (S-форма). Краї колоній рівні. Завись 1-добової культури в фізіологічному розчині має рівномірне замутнення. Реакція аглютинації на склі з полівалентною сальмонельозною сироваткою – різко позитивна.

Резистентність штаму *S. typhimurium* 1041/38с була сформована шляхом 40 послідовних пасажів на м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) з вмістом занижених концентрацій Септодор у вихідного типового патогенного штаму *S. typhimurium* 1041, виділеного від хворого і чутливого до дії Септодору. Штам отриманий нами з національного музею живих культур ІЕІХ ім. Л.В. Громашевського НАМН України. Для визначення вірулентності експериментального отриманого штаму в порівнянні з вихідним штамом нами був застосований метод визначення величини LD_{50} для обох штамів – дози мікробних клітин, яка викликає загибель 50 % заражених тва-

рин при різних способах введення – внутрішньочеревному, пероральному, інтраназальному тощо – білим мишам або іншим видам тварин [2].

Білі миші – високочутливі до зараження штамами сальмонел, що викликає у них септицемію. Наші дослідження були проведені на білих мишах, отриманих з віварію інституту, вагою 18,0-20,0 г, тварини розділені на 15 груп (7 груп для кожного штаму і 1 контрольна група). Для зараження білих мишей використовували однодобову культуру досліджуваних штамів.

Бактеріальні суспензії культури готували на фізіологічному розчині. Послідовні розведення завісі готувалися з кратністю 10 (lg 1) в порівнянні з оптичним стандартом мутності від 10^9 до 10^2 мікробних клітин в 1 мл. (м.кл./мл.) Відповідність концентрації м.кл. в 1 мл завісі було перевірено визначенням кількості колонії утворюючих одиниць (КУО) в 1 мл робочої завісі в трьох останніх розведеннях (10^2, 10^3 , 10^4). Відповідно до отриманих величин КУО готувалися робочі концентрації завісі, які відповідали дозам 10^3-10^9 КУО/мл.

Бактеріальна завись в об'ємі 0,5 мл, що відповідала розведенню 10^3, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8 і 10^9 КУО/мл. вводили білим мишам внутрішньочеревно введена. Кожна доза вводилася 6 білим мишам. Контрольній групі білих мишей внутрішньочеревно було введено по 0,5 мл фізіологічного розчину. Нагляд за зараженими тваринами продовжувався 18 діб. Впродовж цього періоду щодня по кожній групі визначалась кількість загиблих тварин. Причина загибелі тварин, наявність септицемії визначалася шляхом бактеріологічного посіву внутрішніх органів – серця, печінки, селезінки на чашки з МПА і вісмут-сульфітним агаром. Специфічність росту підтверджувалася морфологією культури, фарбуванням за Грамом та реакцією аглютинації на склі зі специфічною полівалентною сальмонельозною сироваткою. Розрахунки LD_{50} досліджуваних штамів проводили згідно статистичних методів [1].

Результати та їх обговорення

Була визначена початкова найменша бактерицидна концентрація (НБК) для Септодору вона складала 0,0022 %, а після 40 пасажів на МПБ з Септодором у одержаного варіанту *S. typhimurium* 1041/38с вона досягла 0,0374 %, тобто зросла у 17 разів і перевищувала найменшу робочу концентрацію Септодору - (0,025%), визначену офіційно затвердженим регламентом до його застосування. Експериментально отриманий варіант штаму *S. typhimurium* 1041/38с, резистентний до дії Септодору, мав такі ж культуральні характеристики, за винятком появи зазубрених країв колоній та зміни характеристики завісі культури в фізіологічному розчині, яка мала осад і прозору надосадову рідину.

Результати досліджень наведені в таблицях 1, 2.

Визначення LD_{50} проводили за формулою:

$\lg LD_{50} = \lg DN - \delta (\Sigma Z1 - 0,5)$ (1),

де DN – максимальна доза (10^9; $\lg 10^9 = 9$);

δ – логарифм кратності досліджених розведень;

Z1 – співвідношення числа загиблих білих мишей до заражених;

ΣZ 1 – сума значень всіх Z1;

G1+і G2- коефіцієнти, визначаються за таблицею. Додаток IX [1].

Звідси у нашому досліді:

$\lg LD_{50} = 9-1(3,82-0,5)$

$\lg LD_{50} = 9-1(3,32)$

$\lg LD_{50} = 9-3,32$

$\lg LD_{50} = 5,68$

анти$\lg LD_{50} = 478630$ живих мікробних клітин.

Розрахунок верхньої і нижньої границь інтервала довіри при 95% ймовірності проводився за формулою: $\lg LD_{50} = \lg LD_{50} \pm \delta G$

Розрахунок по отриманим нами результатам досліду показав:

$\lg LD_{50}$ max= 5,68+ 1,0• 0,5

$\lg LD_{50}$ min= 5,68 - 1,0• 0,5

$\lg LD_{50} = 5,68 \pm 0,5$

Інтервал довіри $\lg LD_{50}$ при 95% ймовірності складає 6,18-5,18.

Анти $\lg LD_{50}$ 1513561 м.кл./мл – 151356 м.кл./мл

Таблиця 1 Результати визначення LD_{50} вихідного штамму *S. typhimurium* 1041

№ пп	Доза (кількість КУО в 0,5 мл зависі)	Введений об'єм зависі (мл)	Спосіб введення бактеріальної зависі	К-сть заражених білих мишей	К-сть загиблих тварин при введенні даної дози	Співвідношення числа загиблих до числа заражених даною дозою(Z1)	Числове вираження співвідношення (Z1)
1	10^9	0,5	внутрішньочеревно	6	6	6/6	1,0
2	10^8	0,5	-„-	6	6	6/6	1,0
3	10^7	0,5	-„-	6	3	3/6	0,5
4	10^6	0,5	-„-	6	2	2/6	0,33
5	10^5	0,5	-„-	6	4	4/6	0,66
6	10^4	0,5	-„-	6	2	2/6	0,33
7	10^3	0,5	-„-	6	-	0	0,0
							ΣZ 1 =3,82

Таблиця 2 Результати визначення LD_{50} резистентного до Септодору варіанту штама *S. typhimurium* 1041/38

№ пп	Доза (кількість КУО в 0,5 мл зависі)	Введений об'єм зависі (мл)	Спосіб введення бактеріальної зависі	К-сть заражених білих мишей	К-сть загиблих тварин при введенні даної дози	Співвідношення числа загиблих до числа заражених даною дозою(Z1)	Числове вираження співвідношення (Z1)
1	10^9	0,5	внутрішньочеревно	6	6	6/6	1,0
2	10^8	0,5	-„-	6	5	5/6	0,83
3	10^7	0,5	-„-	6	4	4/6	0,66
4	10^6	0,5	-„-	6	3	3/6	0,5
5	10^5	0,5	-„-	6	2	2/6	0,33
6	10^4	0,5	-„-	6	-	0/6	0,0
7	10^3	0,5	-„-	6	-	0/6	0,0
							ΣZ 1 =3,32

Таким чином, LD_{50} для вихідного штама *S. typhimurium 1041* становить 478630 живих мікробних клітин.

$lg\ LD_{50} = lg\ DN – \delta\ (\Sigma Z1 - 0,5)$,

$lg\ LD_{50} = 9-1(3,32-0,5)$

$lg\ LD_{50} = 9-2,82$

$lg\ LD_{50} = 6,18$

анти $lg\ LD_{50}$ = 1513563 живих мікробних клітин.

Інтервал довіри $lg\ LD_{50}$ для штама *S. typhimurium* 1041/38с при 95% ймовірності 6,18±0,5. Антилогарифм інтервала довіри = 4786301-478630 живих клітин.

В контрольній групі впродовж всього періоду спостереження білі миші залишались живими.

Визначення ймовірності різниці отриманих результатів при вірогідності 95%:

$lg\ LD_{50}$ штаму *S. typhimurium* 1041/38с;

$lg\ LD_{50}$ штаму *S. typhimurium* 1041 вихідного.

Достовірність різниці визначали за формулою

$lg\ LD_{50}$ 11 – lg LD50 1>$\sqrt{(\delta G-)2+(\delta G+)2}$ (2)

$lg\ LD_{50}$ 38с – lg LD50 вихідн.>$\sqrt{(\delta G-)2+\sqrt{(\delta G+)2}}$

$6,18-5,68 > \sqrt{(1 \cdot 0,5)2 + (1 \cdot 0,5)2}$

$0,5 > \sqrt{0,5}$

$0,5 > 0,2236$

Різниця показників логарифмів LD_{50} резистентного штама *S. typhimurium* 1041/38 і LD_{50} вихідного штама *S. typhimurium* 1041 перевищує √0,5, щосвідчитьпродостовірністьрізницівпоказникахвірулентностідосліджуванихштамівпри 95% ймовірності.

Висновки:

1. Встановлено, що після 40 пасажів на МПБ з Септодором у одержаного варіанту *S. typhimurium* 1041/38с НБК досягла 0,0374 %, тобто зросла у 17 разів і перевищувала найменшу робочу концентрацію Септодору - (0,025%), визначену офіційно затвердженим регламентом до його застосування.

2. Показники LD_{50} резистентного варіанта штаму *S. typhimurium* перевищували показники LD_{50} вихідного штаму, що свідчило про тенденцію до пониження вірулентності після формування підвищеної стійкості збудника до дії дезінфекційного засобу з групи ЧАС – Септодору.

3. Штам *S. typhimurium* з підвищеною стійкістю до дії деззасобу Септодор, як і вихідний штам спричиняв дессимінацію збудника у внутрішніх органах піддослідних тварин, свідчить про те, що формування *S. typhimurium* стійкості до дезінфекційного засобу не має суттєвого впливу на характер та інтенсивність інфекційного процесу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П Статистические методы в микробиологических исследованиях. / Ашмарин И.П., Воробьев А.А. – Ленинград: Гос. издат. мед. литературы. – 1962. – 180 С.

2. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования . / О.М. Биргер. – Москва: Медицина – 1982.– 462 С.

3. Брико Н.И. Эпидемиологические принципы дезинфекционной профилактики хронических инфекционных болезней / Н.И Брико.// Дез. Дело. – 2007. – №3. – С.19-22

4. Брусина Е.Б. Профилактика внутрибольничных гнойносептических инфекций в хирургических стационарах: новый вигляд на старую проблему. / Е.Б. Брусина, И.П. Рычагов // Эпидемиология и инфекционные болезни. -–2006. – №1. – С. 16-21

5. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. / О.В. Бухарин – М.; Медицина. – 1999.- 367 с.

6. Внутрибольничные инфекции: Пер с англ. / П/ред. Н.П. Венцела. 2-е изд. перераб. и доп. – М.:Медицина. –2004.- 840 с

7. Ковалишена О.В. Эколого-эпидемиологические особенности госпитальных инфекций и многоуровневая система эпидемиологического надзора: дис. докт. мед. наук: 14.00.30 / Ковалишена Ольга Васильевна. – Н. Новгород, – 2009. – 355 с

8. Моложава О.С. Сальмонели: вірулентність і імуносупресивні властивості / автореф. дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук 03. 00.07. - мікробіологія. – Київ. – 1998. – С.122.

9. Проблема вирулентности бактерий. / В.Г. Петровская. – Ленинградское отделение: Медицина, 1967. – 263с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ ШТАММА *S. TYPHIMURIUM* В СРАВНЕНИИ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ПОЛУЧЕННОЙ ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ЭТОГО ШТАММА К ДЕЙСТВИЮ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ ИЗ ГРУППЫ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ - СЕПТОДОР.

В.Ф. Мариевский, Е.В. Мурашко

ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В.Громашевского НАМН Украины», Киев.

У штампов *S. typhimurium* выделенных от пациентов с высокой чувствительностью к действию дезинфектанта из группы ЧАС - Септодор искусственно сформирована выраженная резистентность к нему путем проведения пассажей на мясо-пептонном бульоне с добавлением суббактерицидних доз указанного дезсредства. Определен уровень вирулентности у исходного штамма и штамма со сформированной

резистентностью. Установлено, что через 40 пассажей *S. typhimurium*, минимальная бактерицидная концентрация септодор превышала концентрацию, определенную в выходу исходного штамма в 17 раз. Уровень вирулентности у штамма со сформированной резистентностью снизился, однако продолжал вызывать диссиминацию возбудителя во внутренних органах подопытных животных

Ключевые слова: *вирулентность, чувствительность к дезинфектантам, штаммы S.typhimurium*

DETERMINATION OF THE VIRULENCE OF THE STRAIN *S. TYPHIMURIUM* IN COMPARISON WITH THE EXPERIMENTALLY OBTAINED INCREASED RESISTANCE OF THIS STRAIN TO THE ACTION OF DISINFECTANTS FROM THE GROUP OF QUATERNARY AMMONIUM COMPOUNDS - SEPTODOR.

V.F. Marievsky, E.V. Murashko

SI "The L.V. Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine", Kiev.

The strains of *S. typhimurium* isolated from patients with high sensitivity to the action of a disinfectant from the group of QAC - Septodor artificially expressed resistance to it was artificially formed by conducting passages in meat-peptone broth with the addition of subbactericidal doses of the specified disinfectant. The level of virulence in the original strain and the strain with formed resistance was determined. It was established that after 40 passages of *S. typhimurium*, the minimum bactericidal concentration of the septodor exceeded the concentration determined in the output of the original strain 17 times. The level of virulence in the strain with the formed resistance decreased, however, continued to cause the pathogen to dissociate in the internal organs of experimental animals.

Key words: *virulence, sensitivity to disinfectants, S. typhimurium strains*

УДК: 616.216.005.7:628.1.032

Вишнякова Г.В., Фільчаков І.В., Зарицький А.М.

ВДОСЛІДЖЕННЯ ЗДАТНОСТІ ДО ВИЖИВАННЯ У ВОДІ ТА ВІРУЛЕНТНОСТІ ШТАМІВ *SALMONELLA ENTERITIDIS*

ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського НАМН України», Київ

Дослідженнями життєздатності у воді 25 штамів S. enteritidis встановлено штамозалежний характер, чим краще мікроорганізм адаптований до виживання у навколишньому середовищі тим нижча його вірулентність.

Ключові слова: salmonella enteritidis, вірулентність

Активність механізму передачі інфекції тісно пов'язана зі здатністю збудників зберігатися у зовнішньому середовищі. Встановлення термінів збереження збудників у зовнішньому середовищі, умов, при яких вони здатні переживати та розмножуватись, а також ступеню їх стійкості до дії різноманітних факторів, має велике практичне значення, перш за все для наукового обґрунтування заходів, направлених на переривання шляхів передачі збудника інфекції [2, 3].

Мета роботи. Дослідити здатність до виживання у прісній та морській воді штамів Salmonella enteritidis в трьох варіантах температурних режимів: +24°С; +4°С; - 4°С, а також визначити вірулентність штамів з різною адаптацією до виживання у воді.

Матеріали та методи.

Досліджували 25 штамів *S. enteritidis*, які знаходяться на зберіганні у музеї патогенних для людини мікроорганізмів ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН

України». Вивчення здатності до виживання штамів *S. enteritidis* проводили у прісній та морській воді при при трьох варіантах температурних режимів: +24°С; +4°С; - 4°С .

Для оцінки вірулентності визначали летальну дозу LD_{50}, використовуючи нелінійних мишей, вагою 18 - 20 г. Для цього сформували групи по 6 мишей в кожній групі (7 груп) для кожного розведення.

Культуру, вирощену на МПА, змивали 0,9% NaCl, готували послідовні розведення : 10^9 КУО, 10^8 КУО, 10^7 КУО, 10^6 КУО, 10^5 КУО, 10^4 КУО, 10^3 КУО, відповідно. Тварин заражали перорально в обсязі 0,5 мл. Спостереження вели протягом 10 діб з часу зараження. Летальну дозу LD_{50} визначали за формулою Кербера в модифікації І.П. Ашмарина [1].

Результати та їх обговорення.

Як показали проведені дослідження у прісній та морській воді при різних температурних режимах, найбільша загибель мікробних клітин спостерігалася у перші дві доби культивування. На термін виживання впливає доза мікробних клітин. Так, при концентрації 100 000 та менше в 1мл вивчені нами культури виділялись до 2 діб, при концентрації 300-500 млн. на 1мл – до 5-7 тижнів та більше.

Деякі штами *S. enteritidis* зберігали життєздатність при температурі - 4° до 7 – 8 тижнів, як у прісній так і в морській воді; при температурі +4°С – протягом 21 - 22 тижнів в обох варіантах досліджень; при температурі +24°С – протягом 20 - 21 тижнів у морській воді та до 17 – 18 тижнів у прісній.

За даними проведених досліджень, вивчені нами штами сальмонел по різному зберігаються у прісній та морській воді. Тому, на нашу думку, доцільно було проведення вивчення вірулентності штамів з різною здатністю до виживання. Дослідження вірулентності ми проводили на двох штамах: S. enteritidis 1179, який висівався з прісної та морської води протягом 22 тижнів при температурі +4°С, а також штам *S. enteritidis* 1185, який виділявся у тому ж режимі збереження протягом 12 тижнів. Результати дослідження представлені у таблиці (табл.1).

Таблиця 1. Результати визначення LD_{50} штамів *S. enteritidis.*

Salmonella enteritidis 1179					
Вихідна концентрація	10^8	10^7	10^6	10^5	
Li	0,33	0,33	0	0	∑0,66
LD_{50}	$7,8 \times 10^7$				
Salmonella enteritidis 1185					
Вихідна концентрація	10^8	10^7	10^6	10^5	
Li	0,83	0,66	0,16	0	∑1,65
LD_{50}	7×10^6				

Як показали результати дослідження та розрахунки LD_{50}, наведені у таблиці, LD_{50} штаму *S. enteritidis* 1179 становило $7,8 \times 10^7$ КУО, що дозволило віднести цей штам до групи помірно вірулентних.LD_{50} штаму *S. enteritidis* 1185 становило7×10^6 КУО, він відноситься до групи вірулентних.

Висновки. Життєздатність сальмонел у воді має штамозалежний характер, чим краще мікроорганізм адаптований до виживання у навколишньому середовищі тим нижча його вірулентність.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях/ И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев – Л., 1962, 180 с.

2. Онищенко Г.Г. Некоторые итоги профилактики инфекционных заболеваний и основные направления организационных, профилактических и противоэпидемических мероприятий в начале третьего тысячелетия // Инфекц.иммунол. 2008.– №2. – С.97-105.

3. Халафли Х.Н. Влияние природных условий на циркуляцию возбудителей кишечных паразитозов в окружающей среде // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 9–3. – С. 531-534

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ В ВОДЕ И ВИРУЛЕНТНОСТИ ШТАММОВ *SALMONELLA ENTERITIDIS*

Вишнякова А.В., Фильчаков И.В., Зарицкий А.М.

ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В.Громашевского НАМН Украины », Киев

Активность механизма передачи инфекции тесно связана со способностью возбудителей сохраняться во внешней среде. Установление сроков хранения возбудителей во внешней среде, условий, при которых они способны переживать и размножаться имеет большое практическое значение, прежде всего для научного обоснования мероприятий, направленных на прерывание путей передачи возбудителя инфекции. Цель исследования заключалась в определении вирулентности штаммов *Salmonella enteritidis* с разной адаптацией к жизнеспособности в пресной и морской воде при трех вариантах температурных режимов: + 24° С; + 4°С; -4°С. В работе исследовали 25 музейных штаммов *S. enteritidis*. Изучение способности к выживанию штаммов проводили в пресной и морской воде. Для оценки вирулентности определяли летальную дозу LD_{50}, используя нелинейных мышей, весом 18-20г. Исследованиями жизнеспособности в воде установлено штамозалежний характер *Salmonella enteritidis*, чем лучше микроорганизм адаптирован к выживанию в окружающей среде тем ниже его вирулентность.

Ключевые слова: *salmonella enteritidis, вирулентность*

STUDY OF VIRULENT STRAINS OF WITH THE DIFFERENT ADAPTATIONS TO SURVIVE IN WATER

G.V. Vyshnyakova, I.V.Filchakov, A.M.Zarytckiy

SI " L.V.Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases. NAMS of Ukraine ", Kiev

Activity of transmission mechanism is closely linked to the ability of pathogens persist in the environment. Setting of terms of the preservation pathogens in the environment, the conditions in which they are able to survive and reproduce have a great practical importance, especially for the scientific substantiation of measures to interrupt transmission of infectious agents.

The aim of the study was to determine the virulence of *Salmonella* enteritidis strains with different adaptation to viability in fresh and sea water at three different temperature conditions: + 24°C; + 4°C; - 4°C.

This article was investigate 25 strains museum *S. enteritidis*. Studying the survival of strains was performed in fresh and sea water. To assess the virulence determined lethal dose LD50, using nonlinear mice weighing 18-20h.

Research of sustainability in water has a shtamozalezhnyy nature *Salmonella* enteritidis, if the organism better adapted to survive in the environment, the virulence is lower.

Keywords: *salmonella enteritidis, virulence*

УДК 616.831–002/–07/–092.4

В.Р. Шагинян, И.В. Фильчаков, Ю.В. Парфенюк, П.А. Дьяченко, Е.Л. Панасюк

СТРАТЕГИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЭНЦЕФАЛИТОВ

ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины», г. Киев

В работе представлены теоретические основы и современные рекомендации по проведению лабораторной диагностики инфекционных и аутоиммунных энцефалитов. С учетом уровня доказательности рекомендаций и данных собственных исследований, авторами предложена стратегия лабораторной диагностики энцефалитов.

Ключевые слова: лабораторная диагностика, энцефалиты.

Заболеваемость энцефалитами и обусловленная ими летальность в мире достаточно высока. Например, в США в 2000-2010 гг. госпитализация по поводу энцефалита составляла 7,3 на 100 тыс. населения, а смертность – 5,6% [16]. Современные исследования позволяют говорить о разнообразной этиологии поражений паренхимы головного мозга. Помимо инфекционного энцефалита, выделяют аутоиммунные, в том числе постинфекционные и поствакцинальные [2, 13]. Достаточно большая группа поражений ЦНС связана с развитием паранеопластических процессов. К отдельной группе можно отнести васкулиты ЦНС.

Важная роль в формировании заболеваемости энцефалитами принадлежит вирусам. Так, по данным Glaser C.S. et al., вирусная этиология была установлена в 69% случаев расшифрованных энцефалитов [9]. Вирусы также являются триггерными факторами в возникновении аутоиммунных энцефалитов. Среди последних наибольшее значение имеют вирус простого (HSV 1/2) и опоясывающего (VZV) герпеса, цитомегаловирус (CMV), вирус Эпштейна-Барр (EBV), а также некоторые бактерии [5, 36].

Следует также отметить, что истинную частоту поражений ЦНС вирусной этиологии установить трудно в связи с несовершенством используемых диагностических приемов. Примерно 50-64% случаев энцефалита [16, 20] и 81,5% случаев асептического менингита остаются этиологически не распознанными [8].

По данным литературы, энцефалиты могут быть вызваны более чем 100 патогенами, которые варьируют в зависимости от географического региона [20]. В большинстве стран превалируют энцефалиты арбовирусной и герпесвирусной этиологии [19]. В США наиболее часто встречаются энцефалиты, вызванные вирусом простого герпеса, токсоплазмой и вирусом лихорадки Западного Нила, в Юго-Восточной Азии в последнее 10-летие возросла роль энеровируса 71, который вызывает вспышки заболеваний с неврологическими проявлениями [7, 24].

Целью данной работы является изучение теоретических основ и современных рекомендаций по лабораторной диагностике инфекционных и аутоиммунных энцефалитов и разработка, на их основе, рекомендаций по проведению диагностических лабораторных исследований.

При разработке эффективной стратегии лабораторной диагностики энцефалитов учитывался уровень доказательности рекомендаций по проведению лабораторных исследований (табл. 1).

В 2013 г. международный консорциум по энцефалитам (IEC) разработал и предложил полное руководство со стандартным определением случая и основным диагностическим алгоритмом обследования пациентов (детей и взрослых) с подозрением на энцефалит [13]. Было предложено следующее стандартное определение случая энцефалита: «энцефалит – воспаление паренхимы мозга, сопровождающееся неврологической дисфункцией». Энцефалит может быть как инфек-

Таблица 1. Категории доказательств для обоснованности их применения в рекомендациях [2, 37].

Класс достоверности	Уровень доказательств
I – доказательства основаны на ≥ 1 рандомизированном контролируемом клиническом исследовании	A – высокий уровень доказательств в пользу применения рекомендаций (не менее 1 исследования класса I или 2-х исследований класса II)
II – доказательства основаны на ≥ 1 контролируемом клиническом исследовании без рандомизации, когортных исследованиях «случай-контроль» (желательно многоцентровых)	B – средний уровень доказательств (не менее 1 исследования класса II)
III – рекомендации основаны на мнении научных сообществ, экспертов, клинических результатах описательных исследований	C – низкий уровень доказательств (не менее 2-х исследований класса III)

ционной, часто вирусной, так и неинфекционной этиологии, например, острый диссеминированный энцефаломиелит (ADEM). В руководстве отмечается, что основными вирусами, вызывающими энцефалит у иммунокомпетентных лиц, признаны вирусы герпес-группы: HSV-1, VZV, EBV, а также вирусы кори, краснухи, паротита, энтеровирусы.

IEC подчеркивает важную роль диагностической лаборатории, которую часто называют «голосом разума» в установлении диагноза [23]. Предлагаемый IEC алгоритм диагностики энцефалита предполагает проведение рутинных и расширенных исследований, учитывающих особенности конкретного больного (анамнез, клинические проявления и др.), а также географические факторы, сезонность, нейровизуальные данные обследования пациента.

Новым в руководстве IEC является рекомендация использовать в качестве рутинных лабораторных методов определение вирусной этиологии энцефалита с помощью метода ПЦР (при этом подчеркивается важность исследование на энтеровирусы), определение индекса иммуноглобулинов G (IgG) и определение олигоклональных полос в ликворе.

Ряд исследователей отмечает, что, несмотря на информативность методов нейровизуализации, в случае подозрения на инфекционное поражение ЦНС, проведение люмбальной пункции является обязательной процедурой, поскольку только исследование ликвора отражает реальное состояние процессов, происходящих в интратекальном пространстве. Ликвор является оптимальным материалом, который рекомендован для диагностики воспалительных процессов ЦНС [34], а его исследование позволяет дать объективную оценку тяжести процесса [6].

Лабораторные методы исследования ликвора включают подсчет количества и дифференцировку клеточных элементов, определение содержания белка и глюкозы. Эти рутинные исследования, результаты которых не являются специфичными, используются для определения направленности дальнейших действий для верификации диагноза. На основании клинического исследования ликвора можно различить гнойный и серозный менингит (энцефалит). Следует подчеркнуть, что учитывая вовлечение менингеальных оболочек в воспалительный процесс, возникающий в паренхиме мозга, в литературе часто используется термин «менингоэнцефалит».

Важной задачей является установление нарушения ликвородинамики и оценка ее степени. В частности, определение коэффициента альбумина (Qalb)- соотношения концентраций альбумина в ликворе и сыворотке. Альбумин в ликворе имеет плазматическое происхождение, он синтезируется только в печени и проникает в ликвор путем диффузии через эндотелиальные клетки, поэтому его концентрация в ликворе отражает нарушения в функционировании гематоэнцефалического/гематоликворного барьеров (ГЭБ/ГЛБ).

Ранним показателем нарушения циркуляции ликвора также является изменение концентрации преальбумина [4]. Преальбумины являются белками преимущественно мозгового происхождения. В большинстве случаев при патологии наблюдается относительное уменьшение концентрации преальбуминов в такой же степени, в какой увеличивается общий белок в ликворе.

Клинические и биохимические исследования ликвора не позволяют однозначно ответить на вопрос о природе энцефалита, поэтому важной задачей диагностических исследований является установление этиологии заболевания. При подозрении на гнойный процесс проводится бактериологическое исследование ликвора. Выделение чистой культуры бактерий из ликвора является абсолютным подтверждением бактериальной этиологии заболевания. Установление этиологии серозного менингита (энцефалита) представляет наибольшие трудности в связи с необходимостью проведения широкого спектра специфических исследований. Наиболее информативным в данном случае признан метод ПЦР, позволяющий выявлять нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК) вирусов (уровень доказательности IA). С учетом наиболее часто выявляемых при вирусных энцефалитах патогенов, IEC рекомендует в первую очередь определять в ликворе генетический материал HSV-1/2, VZV и энтеровирусов. В зависимости от эндемичности территории важную роль могут играть арбовирусы. IEC также указывает, что этиологические факторы, на которых в первую очередь должен быть сфокусирован алгоритм диагностики, определяются следующим: наиболее часто выявляются при энцефалитах; есть эффективная целевая терапия; патогены представляют значение для общественного здоровья.

Молекулярно-генетические методы – прекрасный тест, но нужно знать, как его использовать. ПЦР-исследование может давать как ложноположительные, так и ложноотрицательные реакции. Ложноотрицательные реакции могут быть связаны с наличием ингибирующих субстанций, препятствующих ПЦР реакции; низкой вирусной нагрузкой, лежащей за пределами чувствительности используемых тест-систем. Ложноположительные результаты могут быть обусловлены контаминацией или перекрестным реагированием. Следует также подчеркнуть, что получение отрицательного результата ПЦР-исследования не означает отсутствие инфекционного процесса. Так, например, отрицательный результат ПЦР на HSV может быть получен в начальных стадиях острого энцефалита, в этом случае рекомендуется провести повторное исследование через 3-7 дней. При подозрении на энцефалит, вызванный VZV, рекомендуется использовать как метод ПЦР, так и определение антител в ликворе, поскольку их выявление в ликворе считается более чувствительным методом, чем ПЦР. То же касается и арбовирусов, в частности вируса Западного Нила.

Отрицательный результат ПЦР-исследования может быть получен в случае латентного инфекционного процесса. По нашим данным, полученным на основании анализа случайно выбранных 100 историй болезни пациентов Центра нейроинфекций ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины», положительный результат ПЦР-исследования ликвора был получен лишь в 7% случаев.

Наряду с исследованием ликвора рекомендуется проводить исследования на наличие специфических маркеров инфекции в сыворотке/плазме крови. Однако, обнаружение в крови антигенов/антител или генетического материала возбудителей (ДНК, РНК методом ПЦР) не всегда указывает на причинно-следственную связь положительных результатов исследования крови с этиологией процесса в ЦНС. Так, по нашим данным, частота получения положительных результатов ПЦР-исследования плазмы крови пациентов Центра нейроинфекций составила 14,1%. При этом активность инфекционного процесса, установленная на основании результатов ПЦР-исследования крови,

не сопровождалась наличием генетического материала вируса в ликворе. Эти данные лишь подтверждают низкий уровень доказательности (Class III) выявления маркеров инфекционного процесса в крови для установления этиологии энцефалита [13]. Следует отметить, что обнаружение в сыворотке крови специфических антител класса IgG при персистентных вирусных инфекциях не может быть основанием для установления этиологического диагноза. В качестве вспомогательного метода может быть рекомендовано исследование авидности антител или парных сывороток, полученных в интервале 2-3 недели. Не менее чем четырехкратное нарастание титра антител можно расценивать как косвенный признак активности инфекционного процесса. Однако столь поздняя верификация диагноза будет менее информативной для врача.

Для повышения эффективности этиологической диагностики энцефалитов необходимо проводить одновременное исследование, как крови, так и ликвора с комплексным применением различных диагностических методов, таких как ПЦР, ИФА, иммунофлюоресцентный анализ. При этом необходимо помнить, что концентрации специфических антител в ликворе будут значительно меньшими, чем в крови (примерное соотношение составляет 1:400), что обусловливает необходимость использования для исследования ликвора тест-систем, обладающих высокой чувствительностью и предназначенных для тестирования ликвора.

Информативным методом диагностики является обнаружение интратекального синтеза специфических антител (ИТСА) на основании расчетов, проведенных по специальным формулам. Исследование сыворотки крови и ликвора проводиться одновременно на тест-системах, позволяющих определять количественное содержание антител в указанных субстратах. Одним из основоположников исследований в области изучения интратекального иммунного ответа можно считать немецкого ученого Hansotto Reiber, который разработал математическую модель расчета показателей интратекального синтеза иммуноглобулинов с учетом проницаемости ГЭБ [32]. IEC оценивает уровень доказательности выявления ИТСА для установления этиологии энцефалита как Class IB.

Исследования показывают, что у пациентов может наблюдаться наличие ИТСА различной специфичности. Другими словами, ИТСА не всегда является индикатором острого инфекционного процесса, а может быть отражением хронического воспалительного процесса аутоиммунной природы. H.Reiber предложил сравнительные характеристики некоторых показателей, получаемых при исследовании ликвора в случае острого инфекционного процесса и полиспецифического иммунного ответа [31] (табл. 2).

Таблица 2. Сравнительная характеристика некоторых показателей ликвора при различных вариантах иммунного ответа

Показатели	Специфический иммунный ответ	Полиспецифический иммунный ответ
Авидность антител	Низкая	Высокая
Фракция общего IgG	10-20%	0,1-0,5%
Количество клеток	Высокое	Низкое (< 20)
Соотношение концентрации альбумина в ликворе и сыворотке крови (Q_{Alb})	Высокое	Низкое (< $15x10^{-3}$)
Концентрация антител в динамике болезни	Снижается	Стабильна
Фрагменты ДНК, РНК, антигены возбудителей	+/-	Не выявляются

Наибольшее значение определение ИТСА имеет у пациентов при проведении дифференциальной

диагностики между инфекционным и аутоиммунным энцефалитом, поскольку при остром инфекционном процессе наиболее информативным методом является ПЦР-исследование. Установить наличие полиспецифического иммунного ответа возможно и при определении в интратекальном пространстве общих IgG и IgM. В норме ЦНС изолирована от иммунной системы ГЭБ, который препятствует проникновению высокомолекулярных белков и иммунокомпетентных клеток из крови. В норме в ликворе IgG полностью происходят из плазмы, но при патологическом состоянии нервной системы происходит их интратекальный синтез, который реализуется при участии эктопической лимфоидной ткани – так называемых третичных лимфоидных образований (ТЛО) [11, 12]. Считается, что ТЛО играют ключевую роль в формировании и поддержании ИТСА. ТЛО могут достигать размера до 1,1 мм в диаметре, что разрешает их визуализацию. Однако, в большинстве случаев, они состоят из 50-100 клеток [35]. Интратекальный синтез IgG является показателем воспалительного процесса в ЦНС инфекционной или аутоиммунной природы. Наиболее часто используется определение индекса IgG. Индекс IgG – показатель, отражающий повышение содержания IgG в интратекальном пространстве, для чего используется соотношение содержания IgG в ликворе (мг/л) и сыворотке крови (г/л). Повышение индекса IgG (>0,6) наблюдается у 86-94% больных рассеянным склерозом (РС) и часто регистрируется на ранних стадиях заболевания при отсутствии других изменений ликвора.

Помощь в диагностике инфекционных поражений ЦНС может оказать тест на наличие в ликворе специфических IgM. Из-за больших размеров молекула IgM не способна к диффузии через ГЭБ, поэтому обнаружение в ликворе специфических IgM может свидетельствовать об нарушении ГЭБ и/или интратекальной их продукции [21]. Кроме того, повышение в ликворе уровня общих IgM является маркером активности воспалительного процесса в ЦНС. Однако определение IgM в ликворе представляет определенные трудности из-за низких концентраций этих иммуноглобулинов в ликворе. Ряд исследователей указывает на информативность определения в ликворе общего IgA. Увеличение его содержания характерно для острых, медленно развивающихся и хронических нейроинфекций, демиелинизирующих заболеваний, опухолей и сосудистых заболеваний ЦНС [31].

Для установления диагноза и назначения адекватной терапии важна объективная оценка наличия и степени интратекального воспалительного процесса. Для этих целей используются методы количественного определения острофазных белков, таких как: С-реактивного белка, С3-компонента комплемента, преальбумина, одновременно в ликворе и сыворотке крови.

На воспалительную этиологию процесса может также указывать и обнаружение в ликворе олигоклональных полос [26]. Олигоклональные полосы — это дискретные полосы иммуноглобулинов, часто обнаруживаемые при РС. По мнению большинства исследователей, эти иммуноглобулины не являются закономерно специфичными по отношению к каким-либо антигенам и не являются патогномоничными для рассеянного склероза. Они выявляются у 30-40% больных с подозрением на РС и у 90-97% больных с установленным диагнозом РС. К тому же этот показатель может быть полезным при диагностике таких предполагаемых аутоиммунных заболеваний ЦНС, как паранеопластические процессы и инфекции [27, 29, 30]. Типы синтеза IgG в ликворе и сыворотке крови представлены в таблице 3.

На основании лабораторного исследования ликвора может быть получена информация о деструктивном процессе в ЦНС. Показателем процесса демиелинизации является обнаружение в ликворе основного белка миелина (ОБМ), который составляет приблизительно 30% миелина ЦНС. При разрушении миелина ОБМ высвобождается и наличие его в ликворе один из наиболее достовер-

ных показателей недавней демиелинизации, причем уровень ОБМ находится в прямой зависимости от степени деструкции миелина. Повышенный уровень ОБМ наблюдается в первые две недели после выраженного обострения у 50-90% больных и со временем нормализуется. Повышение уровня ОБМ не является специфичным для РС, а может наблюдаться при любом процессе, протекающем с деструкцией миелина, например, при инфаркте или инфекционном процессе в ЦНС. Для диагностики деструктивных поражений ЦНС имеет также значение обнаружение и других белков в ликворе. Так, белок S100 (S100B) известен как регулятор внутриклеточного и внеклеточного метаболизма Са [33]. Нейронспецифическую энолазу (NSE) и S100B считают биомаркерами повреждения ткани мозга [15, 17].

Таблица 3. Типы синтеза IgG в ликворе и сыворотке крови в дифференциальной диагностике демиелинизирующих заболеваний ЦНС

Тип синтеза	Синтез в ликворе	Синтез в крови	Нозологическая форма
1-й	Поликлональный	Поликлональный	Норма или острое воспалительное заболевание
2-й	Олигоклональный	Поликлональный	РС 85-95% в дебюте заболевания
3-й	Олигоклональный	Олигоклональный, но менее выраженный	РС, реже системная красная волчанка, вирусные энцефалиты, постинфекционные энцефалиты, саркоидоз
4-й	Олигоклональный	Олигоклональный, идентичный ликвору	Генерализованные процессы с вовлечением ГЭБ: боррелиоз, нейросифилис, синдром Гийена-Барре, ВИЧ, туберкулез, грибковый менингоэнцефалит
5-й	Моноклональный	Моноклональный	Моноклональные гаммапатии

Референтные значения данных показателей для различных возрастных групп в зависимости от пола были установлены в исследовании [10].

В отношении перечисленных выше диагностических тестов, направленных на установление деструктивного процесса в ЦНС, нет убедительных доказательных данных. Как правило, эффективность их использования ограничена отдельными ретроспективными исследованиями и может быть оценена как III уровень доказательности.

Проведения дифференциальной диагностики между вирусными и аутоиммунными поражениями ЦНС представляет определенные трудности. Аутоиммунные энцефалиты (АИЭ) клинически могут мало отличаться от инфекционных энцефалитов. В пользу инфекционного процесса, как правило, свидетельствует острое бурное начало заболевания. Однако нередко продромальные симптомы АИЭ могут вызвать подозрение об инфекционной этиологии заболевания. Ликворологические изменения при АИЭ могут соответствовать таковым при вирусном энцефалите: умеренный плеоцитоз с преобладанием лимфоцитов, небольшое увеличение содержания белка. У некоторых пациентов с АИЭ картина МРТ-исследования может быть в пределах нормы или иметь неспецифические признаки. Часто АИЭ возникает у пациентов с рецидивирующей герпесвирусной инфекцией, иногда после успешной терапии и сопровождается атипичной неврологической симптоматикой.

У пациентов, перенесших энцефалит, вызванный HSV, через несколько недель после заболевания может развиться АИЭ. При этом во время герпетического энцефалита, как правило, будет положительный результат ПЦР-исследования, в то время как при повторном случае, генетический материал вируса не выявляется, в то же время могут быть обнаружены аутоантитела [22]. Предполагается, что HSV запускает «синаптические аутоиммунные реакции» [18, 25], и момент, когда инфекционный процесс сменяется аутоиммунным важно не упустить, поскольку прогноз при АИЭ без проведения адекватной терапии может быть неблагоприятным [18, 28].

При проведении дифференциальной диагностики необходимо помнить, что АИЭ значительно чаще встречаются у иммунокомпетентных лиц по сравнению с иммуноскомпроментированными (в 22 и 3% случаев, соответственно) [14]. Помощь в дифференциальной диагностике инфекционных и аутоиммунных энцефалитов может оказать ликвородиагностика. Незначительный плеоцитоз, отсутствие в ликворе этиологического агента (его нуклеиновых кислот), антигенов или ИТСА к одному возбудителю при выявлении белков острой фазы воспаления, повышенного индекса IgG или IgM говорит скорее в пользу АИЭ. В данном случае полезными могут быть тесты, определяющие наличие деструктивных процессов в ткани мозга и специфические аутоантитела.

Таким образом, лабораторное исследование ликвора дает возможность:

- провести дифференциальную диагностику гнойных и серозных воспалительных процессов в ЦНС (на основании клинического исследования, результат которого может быть получен в течение первых часов после пункции);
- установить наличие и этиологию инфекционного процесса в ЦНС (бактериологические, молекулярно-генетические, вирусологические тесты), однако существующие методы не позволяют установить этиологический фактор в 100% случаев;
- определить наличие воспалительного и/или деструктивного процессов в ЦНС.

На основании обобщения данных литературы и собственных исследований мы предлагаем следующий алгоритм обследования пациентов с подозрением на энцефалит. Схематично алгоритм представлен на рисунке.

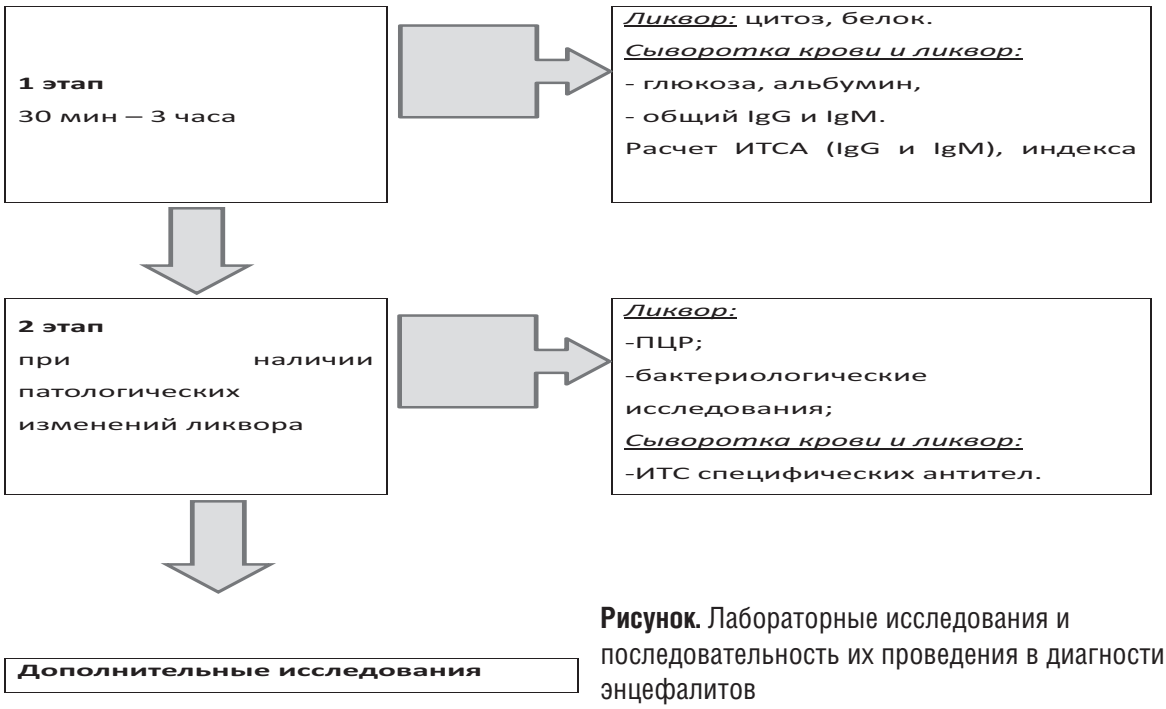

Рисунок. Лабораторные исследования и последовательность их проведения в диагностике энцефалитов

Проведение люмбальной пункции для исследования ликвора является обязательной частью диагностического протокола. Для исследования получают 10-15 мл ликвора, половину из которого следует заморозить (-200°С) для дальнейших исследований. Одновременно с ликвором проводится исследование сыворотки крови, для чего осуществляется забор крови с интервалом не более 1 часа от момента проведения люмбальной пункции. Часть сыворотки крови также необходимо заморозить.

Первым этапом исследования является клинический анализ ликвора, который рекомендуется проводить в срок до 30 минут с момента забора биоматериала [3]. Он включает определение в ликворе количество и состав клеточных элементов, общий белок и глюкозу (последний показатель одновременно определяют и в сыворотке крови). На первом этапе устанавливается наличие или отсутствие патологических изменений ликвора, а также предположительно бактериальная или вирусная природа процесса (при его наличии). Также (в течении 3-х часов от момента забора материала) определяют уровень альбумина и уровень общих IgG и IgM в ликворе и сыворотке крови. На основании этих данных проводят расчет показателей проницаемости ГЭБ/ГЛБ и интратекального синтеза IgG и IgM.

На втором этапе исследования при подозрении на бактериальный процесс в ЦНС ликвор направляется на бактериологическое исследование. Для этиологической верификации вирусного поражения ЦНС на втором этапе проводится исследование ликвора методом ПЦР на наличие HSV 1/2, VZV и энтеровирусов (рекомендации IEC). Необходимость в определении генетического материала других вирусов зависит от эпидемиологического анамнеза, времени года, эндемичности инфекций. Следует помнить, что диагностическая ценность метода ПЦР высока при остром менингите (энцефалите) и крайне низка при хроническом процессе в ЦНС. В качестве дополнительного теста может быть рекомендовано определение специфических IgM в ликворе, определение ИТСА. Одновременно можно определять маркеры активности инфекционного процесса (ДНК/РНК вирусов, специфические IgM) в сыворотке крови, однако уровень доказательности положительных результатов для установления этиологии энцефалита невелик.

На втором этапе исследований может возникнуть необходимость в дифференциальной диагностике между латентными (хроническими) инфекционными и аутоиммунными поражениями ЦНС. В данном случае установление этиологии заболевания определяет тактику лечения, которая будет различаться при заболеваниях инфекционной и аутоиммунной природы. При выявлении у пациента ИТСА только к одному из возбудителей нейроинфекций, этиология поражения ЦНС становится более очевидной. Так, выявление ИТСА к боррелиям является специфичным тестом, говорящим в пользу нейроборрелиоза. По данным нашего исследования [1], у всех пациентов с наличием ИТСА к боррелиям отсутствовала интратекальная продукция антител к другим возбудителям. Как правило, нейроборрелиоз приходится исключать у пациентов с подтвержденным в иммунном блоте положительным результатом исследования сыворотки крови. Боррелиоз является эндемичной для некоторых регионов Украины инфекцией, поэтому число инфицированных и больных боррелиозом достаточно высоко. В то же время, выявление антител к боррелиями в сыворотке крови не всегда является достаточным для установления диагноза нейроборрелиоз, поскольку поражение ЦНС может быть другой, например, герпесвирусной этиологии и протекать на фоне перенесенной (или текущей) боррелиозной инфекции. При этом тактика лечения таких пациентов будет различаться.

Полученный положительный результат исследования в совокупности с клиническими и анамнестическими данными, а также результатами нейровизуальных исследований позволяют подтвердить

диагноз и назначить соответствующую терапию. Нередко у больных с диагнозом «инфекционное поражение ЦНС» выявляется ИТСА к двум и более инфекционным агентам. При получении такого результата следует в первую очередь рассматривать аутоиммунную природу процесса.

В случае невозможности установления диагноза при проведении указанных двух этапов исследования, возникает необходимость в проведении дополнительных исследований, которые следует проводить с аликвотами замороженного ликвора и сыворотки крови. К дополнительным исследованиям мы относим специфические тесты, направленные на установление этиологии аутоиммунного энцефалита, васкулита ЦНС, паранеопластического процесса. Для проведения таких исследований можно использовать коммерческие тест-системы для иммуноферментного или иммунофлюоресцентного анализа. Определенную помощь могут оказать как исследования, направленные на установление активности воспалительного процесса (определение С-реактивного белка в сыворотке и ликворе, преальбумина в ликворе) и/или определение наличия и степени демиелиниризующего процесса в ЦНС (определение ОБМ, белка S100, NSE).

ЛІТЕРАТУРА

1. Досвід визначення інтратекального синтезу антитіл у пацієнтів з ураженнями центральної нервової системи / Шагінян В.Р. [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2017. – N 3(89). – С.24-32.

2. Карпов И.А Энцефалиты в клинической практике – так ли все просто? / И.А. Карпов, Е.Ф. Качанко, А.И. Василенко // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2011. – Том 13, № 2. – С. 104-134.

3. Марданлы С.Г., Первушин Ю.В., Иванова В.Н. Спинномозговая жидкость, лабораторные методы исследования и их клинико-диагностическое значение: учебное пособие для специалистов по клинической лабораторной диагностике. Электрогорск: ЗАО «ЭКОлаб», 2011. – 72 с.

4. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник. Медицинские лабораторные технологии / [под ред. проф. А.И. Карпищенко]. СПб.: Интермедика, 2002. – 408 с.

5. Пономарев В.В. Аутоиммунные заболевания в неврологии. Минск: Беларус. навука, 2010. – 259 с.

6. Цереброспинальная жидкость и перспективы ее изучения / Н.В. Скрипченко [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2011. – N 6. – С. 88-97.

7. A large outbreak of acute encephalitis with high fatality rate in children in Andhra Pradesh, India, in 2003, associated with Chandipura virus / B.L. Rao [et al.] // Lancet. – 2004. – Vol. 364. – P. 869–874. *http://dx.doi.org/10.1016/S0140–6736(04)16982–1*

8. Aseptic Meningitis in Adults and Children: Diagnostic and Management / B Shukla, E.A. Aguilera, L. Salazar[et al.] // J ClinVirol. – 2017. – Vol. 94. – P. 110-114.

9. Beyond viruses: clinical profiles and etiologies associated with encephalitis / C.S. Glaser [et al] // Clin Infect Dis – 2006. – Vol.43. – P. 1565–1577.

10. Biomarkers of Brain Damage: S100B and NSE Concentrations in Cerebrospinal Fluid—A Normative Study / L. Hajduková [et al.] // BioMed Research International Volume 2015, Article ID 379071, 7 pages http://dx.doi.org/10.1155/2015/379071.

11. Bonnan M. Does disease-irrelevant intrathecal synthesis in multiple sclerosis make sense in the light of tertiary lymphoid organs? // Frontiersin Neurology Multiple Sclerosis and Neuroimmunology. – 2014. – Vol. 5. – P. 1-11.

12. Bonnan M. Intrathecal IgG Synthesis: A Resistant and Valuable Target for Future Multiple Sclerosis Treatments // Multiple Sclerosis International Volume. – 2015 *http://dx.doi.org/10.1155/2015/296184*

13. Case Definitions, Diagnostic Algorithms, and Priorities in Encephalitis: Consensus Statement of the International Encephalitis Consortium / A.Venkatesan, [et al.] // Clinical Infectious Diseases.– 2013. – Vol. 57. N 8.– P. 1114–1128.

14. Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: a multicentre, population-based prospective study / J. Granerod [et al.] // Lancet Infect Dis. – 2010. – Vol. 10. – P. 835–844.

15. Combining NSE and S100B with clinical examination findings to predict survival after resuscitation from cardiac arrest / L.M. Calderon [et al.] // Resuscitation.- 2014. – Vol.

85. – P. 1025–1029.

16. George B.P. Encephalitis: hospitalization rates and i patient mortality in the United States, 2000-2010 / B.P. George, E.B. Schneider, A. Venkatesan // PLoS One. – 2014. – Vol.9(9): e104169. doi:10.1371/journal.pone.0104169.

17. Zetterberg H. Biomarkers of mild traumatic brain injury in cerebrospinal fluid and blood. / H.Zetterberg, D. H. Smith, K. Blennow.// Nature Reviews Neurology. – 2013. – Vol.9. N 4. – P.201–210.

18. Herpes simplex virus-1 encephalitis can trigger antiNMDA receptor encephalitis: case report / F. Leypoldt [et al.] // Neurology. – 2013. – Vol. 81. – P. 1637-1639.

19. In search of encephalitis etiologies: diagnostic challenges in the California Encephalitis Project 1998–2000 / C.A. Glaser [et al] // Clin Infect Dis. – 2003. – Vol. 36. – P. 731–742.

20. Infectious causes of encephalitis and meningoencephalitis in Thailand, 2003-2005 / S.J. Olsen [et.al.] // Emerg Infect Dis. – 2015. – Vol. 21. N 2. – P. 280-289.

21. Jacobi C. Quantitation of intrathecal antibodies in cerebrospinal fluid of subacute sclerosing panencephalitis, herpes simplex encephalitis and multiple sclerosis: discrimination between microorganism-driven and polyspecific immune response / C Jacobi, P. Lange, H. Reiber // J Neuroimmunol – 2007. – Vol.187. – P. 139–146.

22. Lancaster Eric. The Diagnosis and Treatment of Autoimmune Encephalitis // J Clin Neurol, – 2016. – Vol. 12(1). – P.1-13.

23. Levenson D. The Challenge of Diagnosing Encephalitis Can Labs, Aided by New Guidelines, Help Clinicians Choose Tests More Wisely? [Электронный ресурс] // Clinical Laboratory News. – 2014. MAR.1. [сайт] *https://www.aacc.org/ (дата обращения 19.05.2018).*

24. Nipah virus encephalitis reemergence, Bangladesh / V.P. Hsu [et al.] // Emerg Infect Dis. – 2004. – Vol. 10. – P. 2082–2087. eid1012.04070. *http://dx.doi.org/10.3201*

25. N-methyl-D-aspartate receptor antibodies in herpes simplex encephalitis / H. Pruss [et al.] // Ann Neurol. – 2012. – Vol. 72. – P. 902–911.

26. Oligoclonal IgG band patterns in inflammatory demyelinating human and mouse diseases. / D. Franciotta [et al.] // J. Neuroimmunol. – 2008. – Vol. 200. – P. 125–128.

27. Paraneoplastic antibodies detected by isoelectric focusing of cerebrospinal fluid and serum / A. Storstein [et al.] // Journal of Neuroimmunology. – 2004. – Vol. 155. – P. 150-154.

28. Pediatric anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis-clinical analysis and novel findings in a series of 20 patients /T. Armangue [et al.] // J. Pediatr. – 2015. – Vol. 162. – P.850–856.

29. Qualitative evidence of anti-Yo-specific intrathecal antibody synthesis in patients with paraneoplastic cerebellar degeneration / O. Stich [et al.]// Journal of Neuroimmunology. – 2003. – Vol.141. – P. 165-169.

30. Rauer S. Demonstration of anti-Hu specific oligoclonal bands in the cerebrospinal fluid from patients with paraneoplastic neurological syndromes. Qualitative evidence of anti-HuD specific IgG-synthesis in the central nervous system / S. Rauer, R. Kaiser // Journal of Neuroimmunology. – 2000. – Vol.111. – P. 241-244.

31. Reiber H. Knowledge-base for interpretation of cerebrospinal fluid data patterns. Essentials in neurology and psychiatry / H Reiber // Arq. Neuropsiquiatr. – 2016. – Vol. 74. N6. – P. 501-512.

32. Reiber H. Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain / H. Reiber, P. Lange // Clin Chem. – 1991. – Vol. 37. N 7. – P. 1153-1160.

33. Sch'afer B.W. The S100 family of EF-hand calcium binding proteins: functions and pathology / B.W. Sch'afer, C. W. Heizmann // Trends in Biochemical Sciences. – 1996. –Vol.21. N 4. – P.134–140.

34. Seehusen D.A Cerebrospinal Fluid Analysis / D.A Seehusen, M.M Reeves., D.A. Fomin // American Family Physician –2003. – Vol. 68, N 6. – P.1103-1108.

35. Tertiary lymphoid organ development coincides with determinant spreading ofthe myelin-specific T cell response. / S. Kuerten [et al.] // Acta Neuropathol. – 2012. – Vol. 124(6). – P. 861–873.

36. Venkatesan A. Autoimmune encephalitis and its relation to infection / A. Venkatesan, D.R. Benavides // Curr Neurol Neurosci Rep. – 2015. – Vol.15.– N 3. doi: 10.1007/s11910-015-0529-1.

37. Viral meningoencephalitis: a review of diagnostic methods and guidelines for management / I. Steiner [et al.] // European Journal of Neurology. 2010. Vol. 17. P. 999–1009.

СТРАТЕГІЯ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ЕНЦЕФАЛІТІВ

В.Р. Шагінян, І.В. Фільчаков, Ю.В. Парфенюк, П.А. Дьяченко, Е.Л. Панасюк
ДУ «Інститут епідеміології і інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України», м.Київ

У роботі представлені теоретичні основи і сучасні рекомендації з проведення лабораторної діагностики інфекційних і аутоімунних енцефалітів. З урахуванням рівня доказовості рекомендацій і даних власних досліджень, авторами запропонована стратегія лабораторної діагностики енцефалітів.

Ключевые слова: *лабораторна діагностика, енцефаліти.*

STRATEGY OF LABORATORY DIAGNOSTICS OF ENCEPHALITIS

V.R. Shaginian, I.V. Filchakov, Yu.V. Parfenyuk, P.A. Dyachenko, O.L. Panasyuk
SI «The Lev Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Theoretical bases and modern recommendations on performing laboratory diagnostics of infectious and autoimmune encephalitis are studied in the paper.

Authors, taking into account the level of evidence of recommendations and data of their own researches, have offered the strategy of laboratory diagnostics of encephalitis.

Keywords: *laboratory diagnostics, encephalitis.*

УДК 616.988–076/.078:578.8.611–018.1–092.4

Дзюблик И.В., Трохименко Е.П.

СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ (проблемна лекція)

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика МЗ Украины, г. Киев

В лекции представлен анализ современных направлений и перспектив использования клеточных культур в лабораторной диагностике вирусных инфекций. Показано, что культуры клеток в классических и новых форматах в сочетании с современными методами флюоресцирующих антител, иммуноферментного анализа, молекулярно–генетических исследований, дополненные технологиями сокультивируемых и генетически модифицированных клеточных систем, способны вновь занять ведущие позиции в классических вирусологических исследованиях. Раскрыто новые возможности клеточных культур как ведущей технологии для выделения и идентификации вирусов.

Ключевые слова: культуры клеток человека и животных, вирусы, вирусные инфекции человека, клинический материал, лабораторная диагностика

Открытие в начале 20 века возможности культивирования клеток человека и животных in vitro предоставило вирусологам замечательную альтернативу использованию лабораторных животных и куриных эмбрионов для выделения и

идентификации вирусов. Клеточные технологии и асептические техники работы дали возможность значительно оптимизировать и, в некоторой степени, стандартизировать вирусологические исследования [15]. Они позволили не только выделять и накапливать вирусы в препаративных количествах, необходимых для изучения их биологических и физико-химических свойств, но и стали незаменимыми при определении серотипов и сероваринтов вирусов при расшифровке спорадических случаев заболеваний, вспышек и эпидемий, при санитарно-вирусологических исследованиях для выделения и идентификации патогенных для человека инфекционных агентов из объектов внешней среды (воды, воздуха, почвы, смывов с поверхностей и др). И, наконец, культуры клеток абсолютно необходимыми для получения вирусов-кандидатов при создании новых иммунобиологических препаратов медицинского применения: противовирусных вакцин, диагностических тест-систем, а также других биологически активных веществ: иммуномодуляторов, цитокинов, факторов роста.

Особенностью настоящего момента является то, что технологические достижения, начиная от разработки моноклональных антител и до внедрения молекулярно-генетических методов исследования, предоставили мощные инструменты для экспрессной этиологической диагностики вирусных инфекций. Так, сегодня методы амплификации нуклеиновых кислот и секвенирование вирусных геномов становятся все более доступными и все шире используются в клинической практике [39], а методы иммуноферментного и хемилюминесцентного анализа и другие, основанные на феномене антиген-антительных взаимодействий, становятся практически рутинными [5]. Обладая высокой чувствительностью и специфичностью, они обеспечивают быструю идентификацию возбудителей непосредственно в клиническом материале с высокой точностью и воспроизводимостью результатов, вытесняя достаточно длительное выделение и идентификацию вирусов в стандартных клеточных культурах. В связи с этим правомерно возникает вопрос: не утратили ли клеточные культуры своего значения «золотого стандарта» в лабораторной диагностике вирусных инфекций и не следует ли отказаться от них в будущем?

Если учесть, что развитие методов и накопление знаний идет по пути от стадии выявления отдельных вирусов к стадии комплексной оценки функционирования организма человека, инфицированного вирусом, то в настоящее время можно говорить о формировании новой парадигмы диагностики инфекционных болезней, где к классическим методам присоединяются молекулярно-генетические методы, позволяя получить результат полезный врачу.

Цель лекции – показать современные направления и перспективы использования клеточных культур, в сочетании с новыми технологиями и их место в лабораторной диагностике актуальных вирусных инфекций.

Типы клеточных культур и их основные свойства. Перечень типов клеток, которые в настоящее время можно культивировать *in vitro*, достаточно велик. Наиболее часто в вирусологических лабораториях применяют первичные, диплоидные и перевиваемые культуры клеток человека и животных.

Первичные (или первичнотрипсинизированные) клеточные культуры получают из соматических, эмбриональных или трансформированных (опухолевых) тканей животных и человека путем их ферментативной дезинтеграции и используют *in situ* или при культивировании в течение 10 последовательных пассажей. Первичные культуры служат первоначальным источником для получения диплоидных и перевиваемых клеточных культур.

Диплоидные культуры (или клеточные штаммы) - это морфологически однородные популяции клеток с диплоидным набором хромосом, полученные из соматических тканей животных и

человека, стабилизированные в процессе культивирования. Они занимают промежуточное место между первичными и перевиваемыми культурами, сохраняя генетическую и функциональную стабильность приблизительно от 10 до 100 пассажа.

Перевиваемые клеточные культуры (или клеточные линии) представлены популяцией претерпевших трансформацию в организме или в процессе культивирования *in vitro* неограниченно размножающихся (более 100 пассажей) клеток с не диплоидным (анеуплоидным) набором хромосом. Клеточные линии могут быть получены: из тканей опухолей человека:HEP-2, RD, из эмбриональных тканей человека: (RH, A1-A5, A8 L132, MRC-5, из эмбриональных и соматических тканей животных - L929 , СПЭВ, ВНК-21, MDCK и многих других (табл. 1). Клеточные культуры всех типов широко используются для выделения и идентификации вирусов и имеют свои преимущества и недостатки (табл. 2). Клетки способны к изменчивости в процессе культивирования и могут давать начало новым вариантам или сублиниям при изменении состава культуральной среды или условий культивирования. Под влиянием разнообразных физико-химических факторов они могут мутировать, образовывать новые формы в результате гибридизации или хронической контаминации малоактивной микрофлорой.

Таблица 1. Клеточные линии, их происхождение и морфологические особенности

Название культуры	Происхождение	Морфологические особенности
Субстратзависимые клеточные линии		
MRC-5	Легкие эмбриона человека	Эпителиальные клетки
A549	Альвеолярная эпителиальная карцинома легкого человека	Эпителиальные клетки
HELA	Аденокарцинома шейки матки человека	Эпителиальные клетки
VERO	Почка африканской зеленой мартышки	Эпителиальные клетки
NIH 3T3	Эмбрион мыши	Фибробласты
L929	Соединительная ткань эмбриона мыши	Фибробласты
CHO	Ткань яичника сирийского хомячка	Фибробласты
BHK-21	Почка сирийского хомячка	Фибробласты
HEK 293	Почка эмбриона человека	Эпителиальные клетки
HEP-G2	Почка человека	Эпителиальные клетки
Субстратнезависимые (суспензионные) клеточные линии		
NSO	Миелома мыши	Лимфобластоподобные клетки
U937	Гистиоцитарная лимфома человека	Лимфобластоидные клетки
Namalwa	Лимфома человека	Лимфобластоподобные клетки
HL60	Лейкемия человека	Лимфобластоподобные клетки
WEHI	В-клеточная лимфома мыши	Лимфобластоидные клетки

Таблица 2. Основные свойства клеточных культур

Преимущества	Недостатки
Первичные клеточные культуры	
1. Морфологически не отличаются от клеток тканей, из которых они были получены и могут включать несколько типов клеток 2. Имеют диплоидный набор хромосом 3. Чувствительны ко многим вирусам человека и животных 4. Безопасны в онкогенном отношении 5. Могут быть получены в большом количестве	1. Трудоемкость и длительность процедуры получения 2. Ограниченное количество пассажей (до 10) 3. Слабая пролиферативная активность (как правило медленно растут) 4. Возможна бактериальная и/или вирусная контаминация, как во время приготовления, так и за счет латентных вирусов, присутствующих в организме.
Диплоидные клеточные культуры (клеточные штаммы)	
1. Морфологически подобны клеткам ткани, из которой они были получены. 2. Однородны по клеточному составу. 3. Имеют диплоидный набор хромосом 4. Свободны от контаминантов. 4. Высоко чувствительны ко многим вирусам. 5. Безопасны в онкогенном отношении	1. Ограниченное количество пассажей (до 100). 2. Исключительная требовательность к условиям культивирования
Перевиваемые клеточные культуры (клеточные линии)	
1. Неограниченное количество пассажей (более 100), потенциальное бессмертие 2. Свободны от контаминантов 3. Относительная простота и стандартизация условий культивирования	1. Морфологически существенно отличаются от клеток исходной ткани 2. Избирательная чувствительность к вирусам 3. Не диплоидный (анеуплоидный) набор хромосом 4. Потенциальная онкогенность

Клеточные культуры различаются между собой по отношению к субстрату: это субстратзависимые и субстратнезависимые (суспензионные) клеточные культуры (табл. 2). В субстратзависимых культурах клетки могут размножаться исключительно после прикрепления и распластывания на поверхности субстрата, покрытого питательной средой, образуя равномерный монослой. Идеальными субстратами являются поверхности из нейтрального стекла и полистирола, которые используют для изготовления культуральных флаконов, пробирок, матрацев. В то же время клетки формируют плотный монослой на полиэтиленовой пленке, керамике, нержавеющей стали [1]. Субстратзависимыми, как правило, являются культуры, происходящие из эпителиальных клеток или фибробластов (табл. 2). Клетки субстратнезависимых культур не формируют монослой и способны размножаться в суспензии. Такие культуры происходят из лимфобластоподобных или лимфобластоидных клеток (Табл.2) и в основном используются в биотехнологии для производства иммунобиологических препаратов при масштабном аппаратном культивировании.

Клеточные культуры в классическом формате. В лабораторной диагностике вирусных инфекций чаще всего используются культуры клеток в классическом формате - субстратзависимые клеточные линии, которые культивируются стационарно в стеклянных или полистироловых культуральных сосудах - пробирках и матрацах, то есть макрометодом. В Украине культуры получают из референс-лабораторий или приобретают в банках клеточных культур в виде образцов криоконсервированных суспензий клеток. Стандартные клеточные линии, например Hep-2, Vero, MDCK и другие некоторое время могут поддерживаться периодическим пассированием, до 25 последовательных пассажей, а при необходимости и первичнотрипсинизированные клеточные культуры получают *in situ* в необходимом количестве. В то же время за рубежом (США, странах Евросою-

за, в Китае) распространена практика приобретения культур в виде уже готовых к использованию сформированных монослоев в пробирках и различных культуральных флаконах в количестве, необходимом для исследований. При этом исключаются затраты на периодическое пассирование клеток и стандартизируются условия проведения диагностических исследований.

Как правило, в поиске чувствительной клеточной культуры, одним и тем же клиническим образцом инокулируется несколько различных клеточных линий. Вид клеток и количество пробирок с культурой, используемых при диагностике, зависят от клинического материала и вируса-возбудителя, предположительно присутствующего в нем, но при этом, при подготовке клинического материала к исследованиям необходимо обеспечить максимальную сохранность инфекционной активности вирусных частиц, способных к репродукции. Своевременный отбор, их надлежащая транспортировка, деконтаминация и хранение очень важны для успешного выделения вирусов. [4].

Стандартным подходом к индикации репродукции вирусов в неокрашенной (нативной) клеточной культуре являются микроскопические исследования. Некоторые вирусы вызывают характерные изменения: полную дегенерацию клеточного монослоя (полиовирусы), округление группировку клеток и в виде «гроздьев винограда» (респираторные аденовирусы), слияние клеток, образование симпластов (вирусы герпеса, кори, респираторно-синцитиальный вирус). Сморщивание (пикноз) клеток, их набухание, округление, образование синцитиев, нарушение целостности клеточного монослоя и появление очагов дегенерации с последующим отслоением клеток от поверхности субстрата называется цитопатогенным (ЦПД) или тканевым цитопатическим действием (ТЦД) вируса. ЦПД у различных вирусов проявляется в широком временном диапазоне: от 24 часов до 20 дней (в среднем 5-10 дней) и зависят от чувствительности клеток, инфицирующей дозы вируса, условий культивирования. Однако проявление ЦПД свидетельствует только о наличии цитопатогенного агента, но не позволяет провести его идентификацию - определить род, вид и серотип вируса-возбудителя. В пределах семейства и рода идентификация возможна иммунохимическими, иммунофлюоресцентными методами или методами молекулярной диагностики.

Идентификация в пределах серотипа (серотипирование) выполняется часто в реакции нейтрализации (РН) со специфическими сыворотками или в реакции прямой иммунофлюоресценции со специфическими антителами, мечеными флюорохромизотиоцианатом (FITC) или родамином. Суспензия инфицированных клеток наносится на предметные стекла, высушивается, фиксируются ацетоном, и экспонируется с мечеными FITC антителами известной специфичности. Связывание антител с вирусными белками выявляется по наличию свечения в инфицированных клетках при исследовании препаратов под флуоресцентным микроскопом. Локализация фокусов флуоресценции и время их появления могут дать дополнительную информацию при идентификации вирусов в пределах родов, однако определение серотипа вируса чаще всего проводится в реакции нейтрализации [3, 4]. Например, идентификация различных серотипов энтеровирусов, относящихся к семейству пикорнавирусов, проводится в реакции нейтрализации с типоспецифическими сыворотками или моноклональными антителами [2, 22, 37].

Определение инфекционного титра выделенного вируса является обязательным этапом, предшествующим постановке реакции нейтрализации.

В ней суспензия выделенного вируса, в дозе 10-100 $ТЦД_{50}$, смешивается с равными объемами диагностических сывороток в определенных серийных разведениях. Полученная реакционная смесь предварительно инкубируется для образования комплекса антигена с антителом, наносится на подготовленные клеточные монослои и

инкубируется до полного проявления ЦПД вируса в контроле. Серотип вируса определяется типом сыворотки, полностью нейтрализующей его инфекционную активность. РН является «золотым стандартом» для идентификации любых вирусов, но это громоздкая и длительная процедура, на практике она используется только тогда, когда другие методы идентификации не доступны. Определение серотипа вируса в РН обычно не выполняется в большинстве клинических лабораторий и выделенные в культурах клеток вирусы передаются для идентификации в специализированные референс-центры.

К основным преимуществам использования клеточных культур для вирусологической диагностики в классических форматах следует отнести возможность выделять, накапливать в препаративных объемах и при необходимости масштабировать культивирование многих патогенных для человека вирусов, таких как: респираторные аденовирусы, энтеровирусы, цитомегаловирусы (ЦМВ), вирусы простого герпеса человека 1-2 типов (ВПГ-1 и ВПГ-2), вирусы гриппа А и В, кори, эпидемического паротита, парагриппа 1 – 4 серотипов, респираторно-синцитиального вируса (RSV), риновирусы, вирус ветряной оспы (VZV) [7]. Однако к их существенным недостаткам следует отнести трудоемкость, длительность и высокую стоимость диагностических исследований.

Культуры клеток также используют для выделения вирусов особо опасных инфекций, таких как Эбола, тяжелого острого респираторного синдрома (коронавирус SARS-CoV), многих арбовирусов, однако такие работы необходимо проводить только в лабораториях особого режима.

Отвечая на вопрос: не утратили ли клеточные культуры своей диагностической значимости в условиях быстрого обнаружения и идентификации вирусов в клиническом материале экспрессными методами, в частности: флюоресцирующих антител (МФА), иммуноферментного анализа (ИФА) или полимеразной цепной реакции (ПЦР), следует отметить, что только в живых системах, и в частности в клеточных культурах, можно подтвердить, является ли вирус инфекционно активным [9, 10]. С другой стороны, предварительное выявление вирусспецифических маркеров в клиническом материале многократно повышает вероятность выделения вирусов *in vitro* и значительно сокращает объем и время исследований, то есть является экономически выгодным.

Клеточные культуры в новых форматах. Следующим шагом, расширяющим классические форматы использования клеточных культур в лабораторной диагностике, становится роллерное культивирование, при котором клетки выращиваются во вращающихся наклонных пробирках или цилиндрических флаконах, а монослой формируется на всей омываемой средой поверхности субстрата. Экспериментально показано, что при этом значительно увеличивается выход вируса в сравнении со стационарным культивированием. Причем выход вируса зависит не только от площади клеточного монослоя, но и от скорости вращения культур. Так, вращение со скоростью 2 об/мин или 96 об/мин. увеличивает выход ВПГ-2 соответственно в 2,4 и 6,8 раз [25]. Стеклянные пробирки для роллерного культивирования под наклоном и полистироловые одноразовые пробирки со скошенным дном и винтовой крышкой были стандартами культуральными флаконами на протяжении многих лет. Затем было предложено стационарное или роллерное культивирование клеток на покровных стеклах, помещенных внутрь таких пробирок «метод летающих стекол». Использование такого метода для ранней диагностики цитомегаловирусной инфекции и ускоряло получение результатов с 2-4 недель, до 2-3 дней [35]. Как его аналог, был разработан метод выращивания клеток на круглых покровных стеклах, получивший признание как метод «shell vials», и в настоящее время широко используемый в лабораторной диагностике вирусных инфекций [24]. Особенность метода состоит в следующем. После образования

монослоя на стеклах ростовая среда удаляется, а адсорбция деконтаминированного вируссодержащего биологического а материала на клетках осуществляется при низкоскоростном центрифугировании (до 700 g) [18, 21]. После центрифугирования на клетки наносится поддерживающая среда, и они культивируются в оптимальном режиме в пробирках, установленных вертикально. По окончании культивирования стекла извлекаются, а клетки окрашиваются. Как правило идентификация проводится иммуногистохимическими методами с использованием антител различной специфичности, меченых пероксидазой хрена или FITC [8]. Использование метода «shell vials» сокращает сроки исследования с 10-30 до 1-2 дней, существенно уменьшая расходы на диагностику. Он имеет и другие преимущества: сокращает количество слепых пассажей при выделении вируса, позволяет выявлять и идентифицировать плохо культивирующихся вирусы, упрощает и стандартизирует диагностические исследования, то есть по сути минимизирует недостатки классических форматов клеточных культур. Он успешно применяется в лабораторной диагностике гриппа, эпидемического паротита [13, 16, 36], других респираторных вирусных инфекций [26, 30], энтеровирусных и аденовирусных инфекций [40] , лихорадки Денге [38], метапневмовирусной инфекции человека [23].

Одним из вариантов метода «shell vials» стало культивирование клеток микрометодом на покровных стеклах или без них на дне лунок плоскодонного микропланшета в так называемых кластерных пластинах (cell culture clusters) с различным диаметром лунок. Широко применяются 24-луночные планшеты с диаметром стекол 13 мм. Преимуществом такого культивирования является возможность изучения окрашенного иммунопероксидазным методом клеточного монослоя под инвертированным микроскопом. [43]. К недостаткам можно отнести возможность перекрестной контаминации клеточных культур при работе с кластерными пластинами.

Технология сокультивируемых клеточных культур предусматривает культивирование разных типов клеток в одном культуральном флаконе в виде единого монослоя. Подготовленные культуры инокулируются клиническим материалом и культивируются в оптимальных условиях, а инфицированные клетки выявляются МФА после обработки антителами различной специфичности, каждое из которых мечено индивидуальным флюорохромом. Такие культуры позволяют одновременно выявлять, а впоследствии и выделять, несколько патогенных вирусов, нередко присутствующих в клинических образцах при смешанных вирусных инфекциях.

Так, сокультивируемые клетки MRC-5 и A549 хорошо себя зарекомендовали при одновременной идентификации МФА в непрямом варианте респираторных аденовирусов, ЦМВ и ВПГ-1 в носоглоточных смывах. При этом использовалась смесь антивидовых антител, меченных тремя различными флюорохромами [6].

Сокультивируемые культуры клеток производятся в коммерческих условиях, например Diagnostic Hybrids, Inc., в виде монослоев в микропробирках и кластерных пластинах или в виде готовой к использованию суспензии. Клетки пригодны для быстрой идентификации различных респираторных вирусов, одновременно присутствующих в клиническом материале. Так, запатентованная культура клеток R-Mix, состоящая из клеток человека A549 и легких норки (Mv1Lu), предназначена для выделения и идентификации вирусов гриппа, РС-вируса, парагриппа 1-3 типов, метапневмовируса [14]. R-Mix позволяет сократить сроки лабораторной диагностики гриппа в культуре клеток до 24 часов и других респираторных вирусов до 48 часов (по сравнению с 14 днями в культурах классических форматов) [19, 32]. Показано, что через 18-24 часа в культуре R-Mix, при идентификации непрямым МФА, обнаруживается до 87,1% положительных результатов выявления респира-

торных вирусов в мазках из носа, отрицательных в МФА и в 96,7% образцов положительных при выделении как в стандартной культуре, так и при выявлении МФА в прямом варианте [11, 12].

Другая культура сокультивируемых клеток R-Mix-2, включающая A549 и MDCK, оказалась еще более чувствительной, чем R-Mix, при выделении и идентификации респираторных вирусов, в том числе и таких, которые плохо культивируются или не дают ЦПД в культурах в классических форматах, например коронавирусов [17].

Еще одна линия сокультивированных клеток, в состав которой входят клетки почки африканской зеленой мартышки CV1 и MRC-5, достаточно широко применяется для одновременного выявления и идентификации ВПГ-1, ВПГ-2 и VZV в клиническом материале [20]. Таким образом, использование сокультивируемых клеточных культур в конечном итоге сокращает время и затраты на проведение лабораторной диагностики актуальных вирусных инфекций.

Для повышения эффективности этиологической диагностики вирусных инфекций *in vitro* было предложено использовать генетически модифицированные клеточные линии – так называемые трансгенные клеточные культуры (transgenic cells) [27]. Разработаны разные подходы к стабильному введению в клетку генетических элементов и генов, полученных из различных источников: бактерий, вирусов, различных клеток. Но для вирусологической диагностики наиболее продуктивными из них оказались два Методологических подхода. Первый - создание клеток, имеющих повышенное количество вирусспецифических мембранных рецепторов, и второй – получение клеток, в которых экспрессия репортерного гена происходит только в условиях инфицирования определенным вирусом, что позволяет выявлять инфицированные клетки простым ферментативным анализом, без использования МФА. Так, путем генетической модификации мышиных L-клеток с помощью гена мембранного рецептора CD155 клеток HeLa, была получена перевиваемая субстратзависимая клеточная линия L20B. В этой трансгенной культуре, благодаря повышенной экспрессии рецепторов к вирусам полиомиелита, не чувствительная к ним культура клеток мышей приобрела селективную чувствительность [33, 41]. В сравнении с культурой аденокарциномы гортани человека HEP-2C штамм *Cincinnati* и рабдомиосаркомы RD, рекомендуемых ВООЗ для лабораторной диагностики полиомиелита, L20B оказалась несколько менее чувствительной к полиовирусам, однако ее неоспоримым преимуществом явилось очень низкая чувствительность к другим пикорнавирусам, в частности к энтеровирусам. Эти преимущества L20B позволили ВООЗ рекомендовать ее для лабораторной диагностики полиомиелита [31, 42].

Другая трансгенная культура ELVIS, предназначенная для детекции и типирования ВПГ человека, была получена путем введения репортерного гена бета-галактозидазы из *E.coli* в клетки BHK-21. Экспрессия этого гена отсутствует в интактных клетках, а в случае инфицирования, активируется вирусспецифическими трансактиваторными белками [28]. В настоящее время трансгенная клеточная линия ELVIS успешно используется для рутинных исследований в вирусологических лабораториях для индикации и идентификации ВПГ-1, так и ВПГ-2. И хотя эти вирусы хорошо репродуцируются во многих эпителиальных клеточных культурах и быстро проявляют ЦПД, их идентификация и серотипирование процесс достаточно длительный (от 4 до 14 суток), требующий дополнительных исследований. В культуре ELVIS для выявления вирусов простого герпеса человека достаточно 16-24 часа от момента инокуляции клиническим материалом в сочетании с центрифугированием [29, 34]. Чувствительность метода составляет 85-86 %, однако для идентификации ВПГ-1 и ВПГ-2 необходимо дополнительно использовать МФА.

Заключение. В начале 60-х годов прошлого века клеточные культуры для выделения и идентификации вирусов применялись очень ограниченно.

Они были доступны только крупным медицинским центрам, а методы их получения и использования очень различались в различных лабораториях. Однако к началу 70-х годов применение высокоочищенных реагентов для приготовления питательных сред, а также расширение спектра клеточных линий, чувствительных к вирусам, патогенным для человека, их стандартизация, паспортизация, криоконсервирование и хранение значительно расширили возможности вирусологической диагностики. Оказавшись дешевыми и доступными объектами, удобными для изучения патогенеза многих вирусных инфекций человека, культуры клеток в течение многих лет служили «золотым стандартом» в лабораторной диагностике вирусных инфекций. Сегодня, в классических и новых форматах в сочетании с современными методами: флюоресцирующих антител, иммуноферментного анализа, полимеразной цепной реакции, культуры клеток, не утрачивают ведущих позиций в лабораторной диагностике вирусных инфекций, а сокультивируемые и трансгенные клеточные культуры значительно расширяют диагностические возможности их применения.

Обнаружение маркеров вирусных инфекций в клиническом материале это только первый шаг к постановке клинического диагноза, и обладает ли вирус инфекционной активностью, является ли он этиологическим агентом инфекции, можно подтвердить только посредством клеточных культур. Поэтому разумное сочетание клеточных культур в классических и новых форматах и экспрессных технологий будет способствовать повышению эффективности лабораторной диагностики вирусных инфекций и полезными практическому врачу-вирусологу. С появлением новых возбудителей, для обнаружения которых еще не разработано диагностических тест-систем, культуры клеток по-прежнему останутся «золотым стандартом» в установлении причинно-следственных связей, при выборе оптимальных методов профилактики и лечения, исследования спектра чувствительности новых вирусов к антивирусным препаратам, устойчивости к дезинфектантам. Кроме того, культуры клеток необходимы для изучения патогенеза выделенных вирусов, их генетических свойств и картирования вирусного генома, поиска вирусов-кандидатов для новых антивирусных вакцин и диагностических тест-систем.

ЛІТЕРАТУРА

1. Білоткач К.М., Трохименко О.П., Салюк А.В., Дзюблик І.В. Культивування поверхнево залежних культур клітин тварин на нетрадиційних матеріалах. Дослідження впливу окиснювальної модифікації поліетиленової плівки на вихід біомаси клітин // Вісник тернопільського державного технічного університету.-2004.-т.9,№2.-С.158-166.

2. Демина А.В., Терновой В.А., Шульгина Н.И., Нестеров С.В. Энтеровирусы. Часть 3. Лабораторная диагностика,лечение, иммунопрофилактика и профилактические мероприятия в очаге (обзорная статья // Бюллетень СО РАМН, 2011.-т. 31, № 3,.-с.115-122.

3. Культура клітин у медичній вірусології. Навчально-методичний посібник .- Київ.-2015.-144 с.

4. Посібник з медичної вірусології /За ред. В.М.Гиріна Київ: Здоровя.-1995.-368 с; Культура клітин у медичній вірусології. Навчально-методичний посібник - Київ.-2015.-144 с.

5.Ahman M, Vandermause MF, Kieke BA, Belongia EA. Performance of Binax NOW Flu A and B and direct fluorescent assay in comparison with a composite of viral culture or reverse transcription polymerase chain reaction for detection of influenza infection during the 2006 to 2007 season. //Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2008;62(2):162-66.

6. Brumback, B. G., and C. D. Wade. 1994. Simultaneous culture for adenovirus, cytomegalovirus, and herpes simplex virus in same shell vial by using three-color fluorescence. J. Clin. Microbiol. 32:2289–2290).

7. Coffin, S. E., and R. L. Hodinka. 1995. Utility of direct immunofluorescence and virus culture for detection of varicella-zoster virus in skin lesions. J. Clin. Microbiol. 33:2792–2795.

8. Cohen P. R., Beltrani V.P., Grossman M.E. Disseminated herpes zoster in patients with human immunodeficiency virus infection. Am J Med. 1988 Jun;84(6):1076–1080.

9. Diane S. Leland and Christine C. Ginocchio Role of Cell Culture for Virus Detection in the Age of Technology //Clin

Microbiol Rev. 2007 Jan; 20(1): 49–78.

10. Dilnessa T, Zeleke H Cell Culture, Cytopathic Effect and Immunofluorescence Diagnosis of Viral Infection. J Microbiol Modern Tech (2017).- 2(1). -P. 102.

11. Dunn J. J., C. Gordon, C. Kelley, and K. C. Carroll. 2003. Comparison of the Denka-Seiken INFLU AB-Quick and BD Directigen Flu A _ B kits with direct fluorescent-antibody staining and shell vial culture methods for rapid detection of influenza viruses. J. Clin. Microbiol. 41:2180–2183.

12. Dunn, J. J., R. D. Woolstenhulme, J. Langer, and K. C. Carroll. 2004. Sensitivity of respiratory virus culture when screening with R-Mix Fresh Cells. J. Clin. Microbiol. 42:79–82.

13. Espy, M. J., T. F. Smith, M. W. Harmon, and A. P. Kendal. 1986. Rapid detection of influenza virus by shell vial assay with monoclonal antibodies. J. Clin. Microbiol. 24:677–679.

14. Fong, C. K., M. K. Lee, and B. P. Grith. 2000. Evaluation of R-Mix FreshCells in shell vials for detection of respiratory viruses. J. Clin. Microbiol.38:4660–4662.).

15. Freshney, R. I. 2000. Culture of animal cells, a manual of basic technique, 4th ed. Wiley-Liss, New York, NY.

16. Germann D., M. Gorgievski, A. Strohle, and L. Matter. 1998. Detection of mumps virus in clinical specimens by rapid centrifugation culture and conventional tube cell culture. J. Virol. Methods 73:59–64.

17. Gillim-Ross, L., J. Taylor, D. R. Scholl, J. Ridenour, P. S. Masters, and D. E. Wentworth. Discovery of novel human and animal cells infected by the severe acute respiratory syndrome coronavirus by replication-specific multiplex reverse transcription-PCR. //J. Clin. Microbiol. 2004.42:3196–3206.

18. Gleaves, C. A., D. J. Wilson, A. D. Wold, and T. F. Smith. 1985. Detection and serotyping of herpes simplex virus in MRC-5 cells by use of centrifugation and monoclonal antibodies 16 h postinoculation. J. Clin. Microbiol. 21:20–32.

19. *https://www.quidel.com/cultures–fluorescent–tests/cell–cultures/continuous–cell–lines/r–mix–and–r–mix–too–mixed–freshcells).*

20. Huang, Y. T., S. Hite, V. Duane, and H. Yan. CV-1 and MRC-5 mixed cells for simultaneous detection of herpes simplex virus and varicella zostervirus in skin lesions // J. Clin. Virol. 2002.-24:37–43.

21. Hughes, J. D. 1993. Physical and chemical methods for enhancing rapid detection of viruses and other agents. //Clin. Microbiol. Rev. 6:150–175.

22. Klespies, S. L., D. E. Cebula, C. L. Kelley, D. Galehouse, and C. C. Maurer. 1996. Detection of enteroviruses from clinical specimens by spin amplification shell vial culture and monoclonal antibody assay. J. Clin. Microbiol.34:1465–1467.

23. Landry, M. L., D. Ferguson, S. Cohen, T. C. T. Peret, and D. D. Erdman. 2005. Detection of human metapneumovirus in clinical samples by immunofluorescence staining of shell vial centrifugation cultures prepared from three different cell lines. J. Clin. Microbiol. 43:1950–1952.

24. Leland, D. S., R. L. Hansing, and M. L. V. French. 1989. Clinical experience with cytomegalovirus isolation using both conventional cell cultures and rapid shell vial techniques. J. Clin. Microbiol. 27:1159–1162.

25. Mavromoustakis, C. T., D. T. Witiak, and J. H. Hughes. 1988. Effect of high-speed rolling on herpes simplex virus detection and replication. J//. Clin. Microbiol. 26:2328–2331.

26. Navarro-Mari, J. M., S. Sanbonmatsu-Gamez, M. Perez-Ruiz, and M. De La Rosa-Fraile. 1999. Rapid detection of respiratory viruses by shell vial assay using simultaneous culture of Hep-2, LLC-MK2, and MDCK cells in a single vial. J. Clin. Microbiol. 37:2346–2347.

27. Olivo, P. D. 1996. Transgenic cell lines for detection of animal viruses. Clin. Microbiol. Rev. 9:321–334.

28. Olivo P.D. Detection of herpes simplex virus by measurement of luciferase activity in an infected-cell lysate. J Virol Methods. 1994 Apr;47(1-2):117–128.

29. Olivo P.D. , Frolov I, Schlesinger S. A cell line that expresses a reporter gene in response to infection by Sindbis virus: a prototype for detection of positive strand RNA viruses. Virology. 1994 Jan;198(1):381–384.

30. Olsen, M. A., K. M. Shuck, A. R. Sambol, S. M. Flor, J. O'Brien, and B. J. Cabrera. 1993. Isolation of seven respiratory viruses in shell vials: a practical and highly sensitive method. J. Clin. Microbiol. 31:422–425.

31. Ozkaya E, Korukluoğlu G, Yalçinkaya T, Türkeri A, Atak T, Kubar A Sensitivities of various cell cultures for the isoltion of enteroviruses. Sensitivities of various cell cultures for the isolation of enteroviruses //Mikrobiyol Bul. 2002 Jul-Oct;36(3-4):301-308.

32. P. Rocco La Sala Kimberly K .Bufton Nahed Ismail, Michael B.Smith. Prospective comparison of R-mix™ shell vial system with direct antigen tests and conventional cell culture for respiratory virus detection // Journal of Clinical Virology Volume 38, Issue 3, March 2007, Pages 210-221).

33. Pipkin, P. A., D. J. Wood, V. R. Racaniello, and P. D. Minor. 1993. Characterization of L cells expressing the human poliovirus receptor for the specific detection of polioviruses in vitro. J. Virol. Methods 41:333–340.

34. Proffitt, M. R., and S. A. Schindler. 1995. Rapid detection of HSV with an enzyme-linked virus inducible system (ELVISTM) employing a genetically modified cell line. Clin. Diagn. Virol.

4:175–182.
35. Reina J, Ballia P, Salva F, Lopez-Corominas V, Fernandez-Baca V, Alberto C, Saurina J. [Utility of different analytical techniques in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection] Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 1997;15(9):502–503.
36. Reina, J., V. Fernandez-Baca, I. Blanco, and M. Munar. 1997. Comparison of Madin-Darby canine kidney cells (MDCK) with a green monkey continuous cell line (Vero) and human lung embryonated cells (MRC-5) in the isolation of influenza A virus from nasopharyngeal aspirates by shell vial culture. J. Clin. Microbiol. 35:1900–1901.
37. Rigonan, A. S., L. Mann, and T. Chonmaitree. 1998. Use of monoclonal antibodies to identify serotypes of enterovirus isolates. J. Clin. Microbiol. 36:1877–1881.
38. Roche, R. R., M. Alvarez, M. G. Guzman, M. Luis, and G. Kouri. 2000. Comparison of rapid centrifugation assay with conventional tissue culture method for isolation of dengue 2 virus in C6/36-HT cells. J. Clin. Microbiol. 38:3508–3510.
39. Templeton KE, Scheltinga SA, Beersma MF, Kroes AC, Claas EC. Rapid and sensitive method using multiplex real-time PCR for diagnosis of infections by influenza A and influenza B viruses, respiratory syncytial virus, and parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4. Journal of Clinical Microbiology. 2004;42(4):1564-69. (2)
40. Van Doornum, G. J., and J. C. de Jong. 1998. Rapid shell vial culture technique for detection of enteroviruses and adenoviruses in fecal specimens: comparison with conventional virus isolation method. J. Clin. Microbiol. 36:2865–2868.
41. Wood D J, Hull B L20B cells simplify culture of polioviruses from clinical samples // J Med Virol. 1999 Jun;58(2):188-192.
42. Wood DJ1, Hull B L20B cells simplify culture of polioviruses from clinical samples // J Med Virol. 1999 Jun;58(2):188-192.
43. Ziegler, T., M. Waris, M. Rautiainen, and P. Arstila. 1988. Herpes simplex virus detection by macroscopic reading after overnight incubation and immunoperoxidase staining. J. Clin. Microbiol. 26:2013–2017.

СУЧАСНІ НАПРЯМКИ І ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ КЛІТИННИХ КУЛЬТУР В ЛАБОРАТОРНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

Дзюблик І.В., Трохименко О.П.
Національна медицична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, м. Київ

В лекції представлено аналіз сучасних напрямків і перспектив використання клітинних культур в лабораторній діагностиці вірусних інфекцій. Показано, що культури клітин в класичних і нових форматах в поєднанні із сучасними методами: флюоресціюючих антитіл, імуноферментного аналізу, молекулярно-генетичних досліджень, доповнені технологіями сокультивованих та генетично модифікованих клітинних систем здатні знову зайняти провідні позиції в класичних вірусологічних дослідженнях. Розкриті нові можливості клітинних культур як провідної технології для виділення та ідентифікації вірусів.

Ключові слова: *культури клітин людини і тваринн, віруси, вирусніе інфекції людини, клінічний матеріал, лабораторна діагностика*

MODERN TRENDS AND PROSPECTS OF USING CELL CULTURES IN LABORATORY DIAGNOSTICS OF VIRAL INFECTIONS

Dzyublik I.V., Trokhimenko O.P.
P.L. Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education named after of MH of Ukraine, Kyiv

Summary. The lecture presents an analysis of current trends and prospects for the use of cell cultures in laboratory diagnostics of viral infections. It is shown that cell cultures in classical and new formats combined with modern methods: fluorescent antibodies, immunoenzyme analysis, molecular genetic studies, supplemented with technologies of co-cultivated and genetically modified cellular systems, can again take leading positions in classical virological studies. New possibilities of cell cultures as a fundamental technology for virus isolation and identification are revealed.

Keywords: *lhuman and animal cell cultures, viruses, human viral infections, clinical material, laboratory diagnostics*